

**Einfluss einer Spendervorbehandlung mit
aerosolisiertem Iloprost (Ilomedin[®]) auf die
postischämische Lungenfunktion nach
experimenteller Lungentransplantation am
Hausschwein**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Stefan Richter
Geboren am 10. November 1979 in Bad Salzungen

Gutachter:

1. Priv.-Doz. Dr. med. Thorsten Wittwer, Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie der Friedrich-Schiller-Universität Jena
2. Prof. Dr. med. Michael Bauer, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin der Friedrich-Schiller-Universität Jena
3. Prof. Dr. med. Hans-Gerd Fieguth, Klinik für Thorax- und Herzchirurgie der Goethe-Universität Frankfurt am Main

Tag der öffentlichen Verteidigung : 06.Juni 2006

Abkürzungsverzeichnis

A.,Aa.	Arteria, Arteriae
Abb.	Abbildung
ADP	Adenosindiphosphat
AF	Atemfrequenz
AMP	Adenosinmonophosphat
AMV	Atemminutenvolumen
AP	arterieller Blutdruck
ARDS	Adult Respiratory Distress Syndrom
AT II	Angiotensin II
ATP	Adenosintriphosphat
BOS	Bronchiolitis Obliterans Syndrom
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
C	dynamische Compliance
C3, C5, C6, C7,C8, C9	Komplementfaktoren
ca.	circa
Ca	Kalzium
Ca/3Na-Antiporter	Kalzium-/Natrium-Antiporter
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
Cl	Chlorid
cm	Zentimeter
CMV	Cytomegalie-Virus
COX	Cyclooxygenase
CR	Komplement-Rezeptor
D	Dalton
d.h.	das heißt
DLTx	Doppelungentransplantation
EC	Euro-Collins
ET	Endothelin
et al.	et alii
Fa.	Firma
Fe	Eisen
F _I O ₂	inspiratorische Sauerstofffraktion
GSH	Glutathion
h	Stunde
H	Wasserstoff (Proton)
HAES	Hydroxyethylstärke

HF	Herzfrequenz
HLA	human leucocyte antigene
HLM	Herz-Lungen-Maschine
HLT _x	Herz-Lungen-Transplantation
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HZV	Herzzeitvolumen
I.E.	internationale Einheiten
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
INF- γ	Interferon γ
I/R-Schaden	Ischämie-/Reperfusionsschaden
K	Kalium
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
l	Liter
LA	linker Herzvorhof
LAP	linksatrialer Druck
LPD	low potassium dextran
LPEC	low potassium Euro-Collins
LT _x	Lungentransplantation
MAC	membrane attack complex
Mg	Magnesium
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
cmH ₂ O	Zentimeter Wassersäule
mmol	Millimol
mod.	modifiziert
mPAP	pulmonalarterieller Mitteldruck
mV	Millivolt
Na	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
Na/H-Antiporter	Natrium-/Protonen-Antiporter
NADP	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
Na/K-ATPase	Natrium-/Kalium-ATPase
NHBD	Non-Heart-Beating Donor
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthetase
O ₂ ⁻	Superoxidanion
OH ⁻	Hydroxylradikal

$^1\text{O}_2$	Singulett-Sauerstoff
PAF	Plättchen aktivierender Faktor
P_aO_2	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PAP	pulmonalarterieller Blutdruck
PCWP	pulmonalkapillärer Wedgedruck
PDE	Phosphodiesterase
PEEP	positiver endexpiratorischer Druck
PER	mit Perfadex antegrad konservierte Gruppe
PER+Ilo	Konservierung mit Perfadex und Verneblung von Ilomedin
PET	Polyethylen
PGE_1	Prostaglandin E_1
PGI_2	Prostaglandin I_2 (=Prostazyklin)
PIP	pulmonalinspiratorischer Spitzendruck
PLA_2	Phospholipase A_2
P_vO_2	venöser Sauerstoffpartialdruck
PVR	pulmonalvaskulärer Widerstand
red.	reduziert
ROC	Relative Oxygenierungskapazität
Sham	Vergleichsgruppe
Sec.	Sekunde
SLTx	Einzellungentransplantation
SP-A, SP-B, SP-C, SP-D	Surfactant-Proteine A, B, C, D
SOD	Superoxiddismutase
sog.	sogenannt
SVR	systemischer vaskulärer Widerstand
Tab.	Tabelle
$\text{TNF-}\alpha$	Tumor Nekrose Faktor α
TSchG	Tierschutzgesetz
TV	Tidalvolumen
u.a.	und andere
UW	University of Wisconsin
V., Vv.	Vena, Venae
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
W/D	Wet/Dry-Ratio
z.B.	zum Beispiel
ZVD	zentralvenöser Druck

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	3
Inhaltsverzeichnis	6
Zusammenfassung	8
1 Einleitung.....	10
1.1 Aktuelle Problematik der klinischen Lungentransplantation.....	10
1.1.1 Mangel an Spenderorganen	10
1.1.2 Postoperative Transplantatfunktion	12
1.2 Historische Entwicklung der Lungentransplantation.....	13
1.3 Der Ischämie-/Reperfusionsschaden (I/R-Schaden).....	15
1.1.3 Einfluss des Organspenders	16
1.1.4 Organischämie und Reperfusion.....	17
1.4 Grundprinzipien der Lungenkonservierung.....	27
1.1.5 Temperatur.....	27
1.1.6 pH-Wert	28
1.1.7 Perfusionsdruck und -volumen	29
1.1.8 Ventilation und Inflation.....	29
1.1.9 Konservierungslösungen.....	30
1.1.10 Applikation der Konservierungslösungen	35
1.1.11 Adjuvantien.....	36
1.5 Ziele der Arbeit.....	45
2 Material und Methodik	47
2.1 Tierschutzgenehmigung.....	47
2.2 Großtierexperimentelles Modell	47
2.3 Versuchsgruppen	47
2.4 Operation	48
2.4.1 Narkose	48
2.4.2 Spenderoperation	49
2.4.3 Empfängeroperation.....	50
2.5 Messwerte und Messzeitraum.....	51
2.5.1 Berechnung abgeleiteter Parameter	52
2.6 Statistische Auswertung.....	53
3 Ergebnisse	54

3.1 Tiergewichte	54
3.2 Hämodynamik.....	54
3.3 Flush-Perfusionsdruck	55
3.4 Flush-Perfusionszeit.....	56
3.5 Kalte Ischämiezeit.....	57
3.6 Oxygenierungsindex (p_aO_2/F_iO_2).....	58
3.7 Compliance	60
3.8 Mittlerer pulmonalerarterieller Druck (mPAP)	62
3.9 Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR).....	64
3.10 Wet/Dry-Ratio (W/D-Ratio).....	66
3.11 Alveoläre Zellzahl (PMN/Alveolus).....	67
4 Diskussion.....	68
4.1 Tierversuche in der medizinischen Forschung	68
4.2 Angewandtes Modell und Methodik.....	69
4.3 Versuchsparameter.....	72
4.4 Ergebnisse.....	75
4.4.1 Einfluss der Konservierungslösung Perfadex® auf die postoperative Transplantatfunktion.....	75
4.4.2 Einfluss einer inhalativen Spendervorbehandlung mittels des Prostazyklin-Analogons Iloprost (Ilomedin®) auf die Konservierungsqualität mit Perfadex®	76
4.4.3 Schlussfolgerungen.....	80
5 Literaturverzeichnis	82
6 Anhang.....	102
6.1 Danksagung	102
6.2 Ehrenwörtliche Erklärung.....	104
6.3 Lebenslauf.....	105

Zusammenfassung

Einleitung

Die Lungentransplantation stellt bei verschiedenen terminalen Lungenerkrankungen nach Ausschöpfung konservativer Verfahren eine vielversprechende Option dar. Um einen strukturell-funktionellen Schaden am Organ zwischen Entnahme und Implantation, der als Ischämie-/Reperfusionsschaden bezeichnet wird, zu minimieren, kommen verschiedene Strategien zur optimalen Konservierung der Lunge zum Einsatz. Derzeit wird in den meisten Transplantationszentren noch die Flush-Perfusion mit Euro-Collins[®]-Lösung verwendet. Trotz der suboptimalen Ergebnisse dieser Lösung und der reduzierten möglichen kalten Ischämiezeit von maximal 6-8 Stunden wird der Wechsel zu modernen Konservierungslösungen nur in wenigen Zentren vollzogen. In dieser Arbeit soll die Konservierungsqualität einer modernen Perfusionslösung mit extrazellulärer Zusammensetzung im Vergleich zu einer Sham-operierten Kontrollgruppe bewertet werden. Basierend auf diesen Ergebnissen soll weiterhin evaluiert werden, ob durch zusätzliche inhalative Spendervorbehandlung mit dem Prostazyklin-Analogon Iloprost (Ilomedin[®]) die frühpostoperative Organfunktion weiter verbessert werden kann.

Material und Methodik

Im in-vivo-Schweinemodell erfolgte die orthotope Einzellungentransplantation des linken Lungenflügels mit anschließender Exklusion des rechten Lungenflügels, um eine isolierte Betrachtung des Transplantates gewährleisten zu können. Die Schweine wurden in 3 Gruppen mit einer Gruppengröße von fünf Tieren randomisiert. Die Tiere in Gruppe I (Sham) wurden lediglich präparativ operiert, jedoch weder Konservierung noch Transplantation unterzogen. Gruppe II (PER) wurde antegrad über die Pulmonalarterie mit Perfadex[®] konserviert und einer kalten Ischämiezeit von 27 Stunden ausgesetzt. Die dritte Gruppe (PER+Ilo) wurde zusätzlich vor der Flush-Perfusion mit Perfadex[®] mit 100µg Iloprost (Ilomedin[®]) inhalativ vorbehandelt. In allen Gruppen wurden funktionelle Basisparameter bestimmt. Zusätzlich wurden bei Gruppe II und III der Perfusionsdruck, die Perfusionszeit und die Dauer der kalten Ischämiezeit ermittelt. Während der sechsstündigen Reperfusion des Transplantates wurden halbstündlich funktionelle Parameter wie Compliance, Oxygenierungsindex und Hämodynamik erhoben. Anschließend wurden Proben entnommen, an denen die

Wet/Dry-Untersuchung sowie die histologische Quantifizierung der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten pro Alveolus (PMN/Alveolus) erfolgte.

Ergebnisse

Alle Lungen wiesen eine ausreichende Funktion mit stabilem Verlauf während der Nachbeobachtungsphase auf. Beim direkten Vergleich aller drei Gruppen erzielte die lediglich mit Perfadex[®] perfundierte Gruppe in allen erhobenen Parametern die tendentiell schlechtesten Ergebnisse. Der Oxygenierungsindex sowie der pulmonalarterielle Mitteldruck (mPAP) unterschieden sich von den Resultaten der Kontrollgruppe signifikant. Die zusätzlich mit Iloprost vorbehandelte Gruppe war in allen erhobenen Parametern mit der Sham-Gruppe vergleichbar. Bei der Konservierung mit Perfadex[®] konnte durch die Spendervorbehandlung mit Iloprost die Lunge bei tendentiell kürzerer Flushzeit mit signifikant niedrigerem Flushdruck perfundiert werden. Die Compliance, als gut mit der postoperativen Lungenfunktion korrelierender Parameter, und die Wet/Dry-Ratio, als Maß für die Quantität des Lungenödems, konnten durch die Iloprost-Verneblung signifikant verbessert werden.

Schlussfolgerung

Zusammenfassend konnten die bisherigen guten Ergebnisse einiger internationaler Arbeiten bezüglich der Konservierungsqualität von Perfadex[®] bei langen kalten Ischämiezeiten bestätigt werden. Durch zusätzliche präischämische Verneblung von Iloprost konnte die frühpostoperative Organfunktion weiter optimiert werden. Diese Ergebnisse legen nahe, die immer noch weit verbreitete Lungenperfusion mit Euro-Collins[®]-Lösung zugunsten moderner Perfusate wie Perfadex[®] zu verlassen. Die inhalative Spendervorbehandlung mit Iloprost ist eine unkompliziert anwendbare Methode, die Anzahl möglicher Spender deutlich zu erhöhen, indem es zum einen durch sehr gute postoperative Ergebnisse bei extendierten Ischämiezeiten den Einzugsradius der Transplantationszentren vergrößert und zum anderen die Verwendung von nicht optimalen Spendern (marginal donors) bei ausreichender Transplantatfunktion als Option anbietet. Auch kann die kritische postoperative Phase günstig beeinflusst werden, denn eine gute Compliance und ein geringgradiges Lungenödem korrelieren mit einer Verkürzung der Beatmungsdauer und intensivstationären Betreuung.

1 Einleitung

1.1 Aktuelle Problematik der klinischen Lungentransplantation

Die Lungentransplantation hat sich in den letzten 20 Jahren bei einer steigenden Zahl terminaler Lungenerkrankungen als Therapie der Wahl etabliert. Dazu gehören neben den obstruktiven Lungenerkrankungen wie der zystischen Fibrose, dem primären und sekundären Emphysem, Bronchiektasien, den restriktiven Lungenerkrankungen wie der primären Lungenfibrose, exogen allergischen Alveolitis, Sarkoidose und Histiozytose auch die vaskulären Erkrankungen in Form der primären oder sekundären pulmonalen Hypertonie. Obwohl diese Form der Therapie auch heute noch mit einer hohen perioperativen Mortalität von 10%, einer 1-Jahresüberlebensrate von ca. 80% und einer 5-Jahresüberlebensrate von ca. 50% verbunden ist, stellt sie doch oft die letzte Überlebenschance für Patienten mit terminaler Lungenerkrankung dar, bei denen andere Therapieoptionen ausgeschöpft sind und die aufgrund einer raschen Progression nur eine Überlebenszeit von 12-18 Monaten zu erwarten haben (Meyers et al. 1999).

Bis Juli 2003 wurden weltweit kumulativ ca. 17.000 Lungentransplantationen und mehr als 3.000 kombinierte Herz-Lungen-Transplantationen vorgenommen, wobei die Zahl der jährlich transplantierten Patienten die letzten Jahre bei ca. 1.500 Organverpflanzungen stagnierte (ISHLT 2005). In Deutschland wurden 2003 212 Lungen transplantiert. Tatsächlich werden jedoch doppelt so viele Spenderorgane benötigt (DSO 2005).

Zusammenfassend sind somit drei große Probleme vordringlich zu lösen. Erstens muss dem progredienten Spendermangel begegnet werden, zweitens ist eine Erhöhung der Zahl geeigneter Transplantate anzustreben, und drittens müssen die frühpostoperative Organfunktion verbessert und die Zahl der chronisch abgestoßenen Transplantate gesenkt werden.

1.1.1 Mangel an Spenderorganen

Der Organmangel hat mehrere Ursachen. Die Zahl der Spender ist in den letzten Jahren weitestgehend konstant geblieben, während die Anzahl der potentiellen Empfänger auf der Warteliste eine progrediente Steigerung aufwies. Zudem besteht derzeit in Deutschland eine rechtliche Beschränkung bei der Verwendung von Organen, denn der Spender bzw. seine Angehörigen müssen einer Organentnahme zustimmen. In einigen

anderen europäischen Ländern hingegen dürfen die Organe prinzipiell ohne explizite Zustimmung des potentiellen Spenders entnommen werden, es sei denn seinerseits liegt ein Widerspruch vor. Inwieweit mehr Spender durch eine Gesetzesänderung, bei der eine solche Widerspruchsregelung eingeführt wird, gewonnen werden können, bleibt unklar.

In den letzten Jahren konnte experimentell gezeigt werden, dass neben der Verwendung von Organen hirntoter Spender eine Alternative in der Transplantation von Lungen herztoter Spender („non-heart-beating donors“, NHBD) liegen könnte (Shennib et al. 2001, Wittwer 2003), in Analogie zu dem Vorgehen, das seit vielen Jahren in der klinischen Nierentransplantation gängige Praxis ist. Erste klinische Anwendungen wurden bereits mit gutem Erfolg vorgenommen (Steen et al. 2001). Allerdings ergeben sich auch hier juristische und ethische Probleme, deren Erörterung noch aussteht.

Ein weiteres Problem besteht in der Tatsache, dass entsprechend der gängigen Akzeptanzkriterien lediglich 10-30% der Lungen als transplantabel eingestuft werden (Tab.1). Sie stammen aus den sogenannten idealen Spendern. Die in Tabelle 1 erwähnten Parameter sollen die postoperative Lungenfunktion vorhersagen. Tatsächlich wurde auch mit nichtidealen Spendern, den sog. „marginal donors“, kein schlechteres Ergebnis erzielt als mit den sog. idealen Spenderorganen. In einer Untersuchung von 29 abgelehnten Transplantatlungen fanden Ware und Mitarbeiter, dass 12 dieser Organe mit akzeptablen Erfolgsaussichten hätten genutzt werden können (Ware et al. 2002). Auch andere Gruppen erreichten eine gute Transplantatfunktion nach Verwendung nicht optimaler Organe (Shumway et al. 1994, Sundaresan et al. 1995).

Tab.1: Spender-Auswahlkriterien nach Vorschlag der Toronto Lung Transplant Group, modifiziert nach (De Perrot et al. 2003)

Auswahlkriterien	Standard (ideale Spender)	Erweitert (sog. „marginal donors“)	Kontraindikationen
AB0 Kompatibilität	gleich	kompatibel	inkompatibel
Spender Kriterien			
Alter (Jahre)	<55	>55	
Raucher (py)	<20	>20	
Thorax Trauma	kein Trauma	lokalisiertes Trauma	massives Trauma
Beatmungsdauer (h)	<48	>48	
Asthma	kein Asthma	Asthma	
Bösartige Erkrankung in Vorgeschichte	nein, außer niedriggradiger Hautkrebs oder Carcinoma in situ	Primär zentralnervöse Tumoren	ja
Sputum	keine Erreger	Bakterien	
Arterieller Sauerstoffpartialdruck (mmHg)*	>300	<300	
Röntgen Thorax	ohne Befund	lokalisierte Infiltrate	diffuse Infiltrate
Bronchoskopie	ohne Befund	Schleim in großen Atemwegen	Eiter, Anzeichen für Aspiration

* letzte Blutgasanalyse im Operationssaal bei Beatmung mit $F_iO_2=1,0$ und $PEEP=5$ cm H_2O

Ein weiteres Problem ist die maximal mögliche Ischämiezeit der Transplantate, die zur Zeit klinisch etwa 6 –8 Stunden bei der üblichen Konservierung mit kaliumreduzierter Euro-Collins®-Lösung (EC) nicht überschreiten sollte (De Perrot et al. 2003). Aufgrund dieser engen zeitlichen Frist ist es teilweise nicht möglich, das Organ zum passenden Empfänger zu transportieren, weil Spender und Empfänger räumlich zu weit entfernt sind. Eine vielversprechende Möglichkeit zur Verlängerung der tolerablen Ischämiezeit stellt in diesem Zusammenhang die Optimierung der Konservierungsverfahren dar.

1.1.2 Postoperative Transplantatfunktion

Der qualitative Aspekt der Lungentransplantation ist zum einen durch das perioperative Risiko, zum anderen durch das Auftreten eines akuten Transplantatversagens sowie einer chronischen Abstoßung bedingt (Sundaresan 1998, Meyers et al. 1999). Den perioperativen Problemen kann durch eine Modifizierung und Optimierung der Operationstechniken, wie es in den vergangenen Jahren zunehmend möglich war, und der nötigen medizinischen Expertise begegnet werden. Die akute Transplantatinsuffizienz ist durch den Ischämie-/Reperfusionsschaden (I/R-Schaden) gekennzeichnet, der sich innerhalb der ersten 72 Stunden nach Transplantation durch einen unspezifischen Alveolarschaden, ein Lungenödem und Hypoxämie äußert (De

Perrot et al. 2003). Dieser Aspekt wird in dieser Dissertation noch weitergehend beleuchtet, da er entscheidend durch die Konservierung sowie die Verabreichung von Adjuvantien, die dem pathophysiologischen Geschehen entgegenwirken sollen, beeinflusst werden kann. Die chronische Transplantatabstoßung äußert sich klinisch durch das Bronchiolitis Obliterans Syndrom (BOS). Fünf Jahre nach Transplantation sind ca. 70% der Empfänger von einer chronischen Abstoßung in Form einer BOS betroffen. Obwohl die Ätiologie noch nicht vollständig geklärt ist, scheint eine HLA-Inkompatibilität und eine CMV-Infektion an der Entstehung wesentlich beteiligt zu sein (Paradis et al. 1993, Sundaesan 1998). Prinzipiell läuft eine CMV-Infektion meist subklinisch ab. Allerdings werden Erregerpersistenz bzw. rezidivierende Infektionen durch die Immunsuppression nach der Transplantation deutlich begünstigt. Die HLA-Kompatibilität wird in der klinischen Praxis nicht überprüft, da dies durch die kurze Zeit der Ischämietoleranz nicht möglich ist. Schließlich kann somit auch dem Problem der chronischen Abstoßung durch eine bessere Konservierung der Transplantate mittels einer Verlängerung der maximalen Ischämiezeit begegnet werden.

1.2 Historische Entwicklung der Lungentransplantation

Erste grundlegende Überlegungen zur Transplantation der Lunge entstanden im 20. Jahrhundert parallel zur Transplantation von Geweben und anderen Organen. Alexis Carell (1873-1944), Physiologe und Experimentalchirurg, führte 1909 erste Versuche zur Nierentransplantationen mit Katzen durch (Bouchet 2000). Der russische Physiologe Demikhov transplantierte 1947 als Erster Lungenlappen beim Hund (Demikhov 1969). Nur 3 Jahre später führte auch Staudacher Auto- und Allotransplantationen bei Hunden durch und erkannte, dass Autotransplantate wesentlich besser toleriert wurden (Staudacher et al. 1950). Metras beschrieb im selben Jahr eine Erleichterung der Lungenvenenanastomosentechnik durch Verwendung eines Vorhofcuffs (Metras 1992). In den folgenden Jahren zeigte sich in weiteren experimentellen Transplantationen, dass ein Langzeitüberleben bei Autotransplantationen über 35 Monate möglich war, Allotransplantate aber akut versagten. Nach der Entdeckung von Methotrexat und Azathioprin gelang es Blumenstock 1961 erstmals auch gute Langzeiterfolge bei Allotransplantationen der Lunge beim Hund zu erzielen (Blumenstock et al. 1969). 1963 folgte dann der erste klinische Versuch durch Dr. J.D. Hardy bei einem Patienten mit Emphysem und fortgeschrittenem Bronchialkarzinom. Die Operation war zwar erfolgreich, der Patient

verstarb jedoch am 18. postoperativen Tag an akutem Nierenversagen (Hardy 1999). Neben diesem und noch anderen enttäuschenden Verläufen nach Lungentransplantation wurde diese Therapieoption zunächst verlassen. Zwischen 1963 und 1985 wurden lediglich 40 Lungenverpflanzungen durchgeführt, allerdings wie oben beschrieben ohne signifikanten Langzeiterfolg. Lediglich 1971 ist ein Fall einer 10-monatigen Überlebenszeit beschrieben worden (Grover et al. 1997). Neben den schlechten Langzeitergebnissen gab es oft auch akute postoperative Probleme. Die Durchtrennung der bronchialen Zirkulation führte oftmals zur Dehiszenz der Bronchusanastomose. Diesem Problem wurde anfangs mit der Umschlingung der Verbindungsstelle durch einen gestielten Omentumlappen begegnet (Lima et al. 1982). Ebenso gab es Versuche, die Bronchialarterien wieder an den Blutkreislauf anzuschließen (Mills et al. 1970). Jedoch erst durch die Entwicklung des Cyclosporin A Ende der 70er Jahre kam es zur deutlichen Verbesserung der postoperativen Ergebnisse. 1981 führte Reitz in Stanford mit diesen innovativen Therapieansätzen die erste erfolgreiche Herz-Lungen-Transplantation (HLT_x) durch (Reitz et al. 1980, Reitz et al. 1981). Aufgrund dieser Tatsache entschlossen sich auch andere Arbeitsgruppen zur Wiederaufnahme des Transplantationsprogramms. 1983 wurde von Cooper und Patterson in Toronto die erste erfolgreiche Einzellungentransplantation (SLT_x) sowie 1985 die erste erfolgreiche Doppellungentransplantation (DLT_x) vorgenommen. Von den 7 zwischen 1983–1985 transplantierten Patienten zeigten 5 gute Langzeitergebnisse (Toronto Lung Transplant Group 1986, Cooper 1987, Cooper et al. 1987). Seither ist die Zahl der Lungentransplantationen deutlich angestiegen, bis sie vor ca. 10 Jahren ein bis heute andauerndes Plateau erreicht hat (Trulock et al. 2003).

Die Erfolge in der Lungentransplantation sind neben der verbesserten Technik und Immunsuppression entscheidend der Entwicklung einer adäquaten Lungenkonservierung zu verdanken. Die ersten Transplantationen wurden infolge Mangels an einer entsprechenden Konservierungsmöglichkeit mittels der sogenannten „on site preservation“ durchgeführt. Dabei fanden Entnahme und Implantation des Organs unmittelbar lokal benachbart statt. Es wurde hierzu lediglich eine topische Kühlung der entnommenen Lunge bis zur Implantation vorgenommen, um den Zellmetabolismus durch Hypothermie herabzusetzen und somit den Schaden durch Hypoxie (Apoptose und Nekrose) möglichst gering zu halten (Haverich et al. 1985). Allerdings implizierte dieses Vorgehen, dass der Spender und der Empfänger jeweils zum gleichen Ort

transportiert werden mussten, da eine kalte Ischämiezeit von einer Stunde nicht überschritten werden sollte.

Deshalb wurde von der Universität in Pittsburgh ein Verfahren entwickelt, das mittels Kühlung durch eine Herz-Lungen-Maschine (HLM), dem sogenannten „donor core cooling“, eine längere Ischämiezeit erlauben sollte. Bei diesem Verfahren konnten aufgrund des über große Strecken intransportablen Gerätes aber nur Spender aus der näheren Umgebung akzeptiert werden. Eine weitere Verbesserung erfuhr diese Technik durch die Entwicklung einer tragbaren Herz-Lungen-Maschine, wodurch auch weiter entfernte Spender in Frage kamen (Hardesty and Griffith 1985, Haverich et al. 1990). Durch den relativ großen technischen Aufwand in Verbindung mit den nicht geringfügigen Komplikationen der HLM wie Komplementaktivierung, Leukozytensequestration und Thrombozytenaggregation, ist dieses Verfahren nur in wenigen Zentren zum Einsatz gekommen. Man suchte nach besseren und unkomplizierteren Möglichkeiten zur Konservierung und fand sie in der sogenannten „Single-Flush-Perfusion“ (Haverich et al. 1990). Bei diesem Verfahren wird eine gekühlte Konservierungslösung über die Pulmonalarterie bei physiologischem Perfusionsdruck durch die Lunge geführt, um das Organ homogen „von innen“ zu kühlen.

1.3 Der Ischämie-/Reperfusionsschaden (I/R-Schaden)

Der Ischämie-/Reperfusionsschaden stellt ein komplexes pathophysiologisches Geschehen dar, welches sich im Zeitraum von der Entnahme bis ca. 72 Stunden nach Transplantation des Organs manifestiert und somit wesentlich die frühpostoperative Funktion beeinflusst. Er ist u.a. durch Vorschädigung der Lunge beim hirntoten Patienten, Vorgänge während der Entnahme des Organpaketes, der Lagerungsphase in kalter Lösung und schließlich der Reperfusionsphase nach Transplantation bedingt. Der Begriff bezeichnet das Auftreten eines unspezifischen Alveolarschadens, eines Lungenödems sowie einer Hypoxie unterschiedlichsten Ausmaßes innerhalb der ersten 72 Stunden nach Transplantation. Der Grad der Ausprägung des I/R-Schadens reicht vom Auftreten leichter hypoxischer Zustände mit milden Lungeninfiltraten bis zur vollen Ausprägung eines ARDS, welches eine erweiterte intensivmedizinische Betreuung erforderlich macht und unter Umständen sogar zum Tode des Patienten durch akutes Transplantatversagen führen kann (De Perrot et al. 2003). Neben dem Auftreten dieser Transplantatdysfunktion prädisponiert der I/R-Schaden darüberhinaus

zu einem erhöhten Risiko für akute und chronische Transplantatabstoßung (Fiser et al. 2002). Klinisch tritt der I/R-Schaden bei bis zu 30% aller Empfänger auf (De Perrot et al. 2003).

1.1.3 Einfluss des Organspenders

Die Lunge wird durch das Trauma, das zum Hirntod des Spenders führt, über verschiedene Mechanismen vorgeschädigt. Zum einen kann eine Hypopnoe oder Apnoe zur intermediären Hypoxie führen. Des Weiteren sind auch durch eine Schocksymptomatik beim polytraumatisierten Patienten oder durch ein direktes physikalisches Trauma wie bei einem Unfall oder bei kardiopulmonaler Reanimation oft Schäden an der Lunge zu verzeichnen. In manchen Fällen führt auch die Aspiration von Mageninhalt durch direkte Schädigung des Parenchyms sowie durch die Inaktivierung des Surfactants zur Beeinträchtigung der Organqualität, was sich in Atelektasen äußern kann. Durch die schwere Verletzung polytraumatisierter Patienten entsteht eine systemische Entzündungsreaktion im Verlauf der ersten Tage nach dem Ereignis, welche die Lunge ebenfalls einbezieht. Hierbei ist ein Anstieg des Interleukin-8 zu verzeichnen. Die Konzentration dieses Zytokins korreliert negativ mit der postoperativen Transplantatfunktion und eignet sich damit als Marker zur Auswahl von Spenderlungen (De Perrot et al. 2002). Weitere Schädigungsmechanismen entstehen während der intensivmedizinischen Betreuung bis zur Entnahme der Organe. Durch die mechanische Ventilation, die beim hirntoten Patienten erforderlich ist, resultiert die Gefahr eines Barotraumas sowie ein erhöhtes Risiko einer nosokomialen Infektion. Auch die Pathophysiologie des Hirntodes trägt entscheidend zur Minderung der Qualität der Lunge bei. Durch Ausfall der Hirnstammfunktionen kommt es zu einer Störung der Thermoregulation, metabolischen Entgleisungen und zur Überaktivität des Sympathikus. Dieser wiederum wird für die Entstehung des neurogenen Lungenödems durch eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität verantwortlich gemacht (Bittner et al. 1995b). Mit dem Ausfall der Hirnfunktionen verlieren auch der Hypothalamus und die Hypophyse ihre Funktionen. Diese Strukturen sind für die Steuerung einer Reihe hormoneller Systeme verantwortlich, unter ihnen auch die Nebenniere. Durch deren Unterfunktion, genauer durch den Mangel an Glucokortikoiden, wird einer Entzündungsreaktion Vorschub geleistet bzw. eine schon bestehende verstärkt (Mertes et al. 1994, Bittner et al. 1995a, Follette et al. 1998). In Biopsien von Nieren toter Spender sind signifikant höhere Konzentrationen an proinflammatorischen Zytokinen,

Adhäsionsmolekülen und HLA-Molekülen im Vergleich zu Biopsien aus Nieren von Lebendspendern gefunden worden. Diese Werte korrelieren mit dem Auftreten einer primären Transplantatdysfunktion, sowie der akuten und chronischen Abstoßung und zeigen somit auf, dass sie einen entscheidenden Punkt des I/R-Schadens widerspiegeln (Kim et al. 2000b, Schwarz et al. 2001).

1.1.4 Organischämie und Reperfusion

Vorgänge während der Entnahme des Organs, der Lagerungsphase und der anschließenden Reperfusion sind entscheidend an der Entstehung des I/R-Schadens beteiligt. Hierbei laufen verschiedene pathophysiologische Mechanismen im Lungenparenchym ebenso wie an den Endothelzellen parallel ab, die sich zum Teil wechselseitig beeinflussen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wird in dieser Arbeit eine Trennung in nichtentzündliche und entzündliche Prozesse vorgenommen.

1.3.1.1 Nichtentzündliche Prozesse

1.1.1.1 Störungen der Elektrolythomöostase

In normalen Körperzellen wird durch zum Teil energieaufwendige Prozesse ein Gleichgewicht zwischen intra- und extrazellulären Ionenkonzentrationen aufrechterhalten. Hierbei wird je nach Funktion und Art der Zelle im Wesentlichen folgender Zustand angestrebt: hohe intrazelluläre Kaliumkonzentration, niedrige intrazelluläre Natrium-, Kalzium- und Chloridkonzentrationen. Als Anionen zum Kalium dienen hauptsächlich negativ geladene Proteine. Extrazellulär verhalten sich die Konzentrationen der Elektrolyte nahezu umgekehrt. Der Aufbau dieser ionalen Verteilung dient verschiedenen Zwecken. Erstens wird durch das isotonische Verhältnis von intra- und extrazellulärer Flüssigkeit einer größeren Wasserverschiebung in die Zelle hinein bzw. aus der Zelle heraus und somit einer Zellschwellung bzw. einer -schrumpfung entgegengewirkt. Zweitens wird hierdurch ein Ruhemembranpotential aufgebaut, das je nach Zelltyp bei ca. -70 mV liegt. Dieser Spannungsgradient wiederum ist von Bedeutung für Signaltransduktionsprozesse. Als Energielieferant dient der Zelle Adenosintriphosphat (ATP), das durch Spaltung in Adenosindiphosphat (ADP) und Phosphat für viele Prozesse die nötige Energie liefert. Ein Großteil hiervon wird zur Aufrechterhaltung der Elektrolythomöostase und des Ruhemembranpotentials benötigt. Diesem Zweck dienen aktive Transporter wie die Natrium-/Kalium-ATPase

(Na/K-ATPase) und die Kalzium-ATPase. Von diesen aktiven Transportproteinen sind weitere sekundär aktive Transporter abhängig, die die entstandenen Ionengradienten nutzen, um weitere Ionen in die Zelle hinein oder aus ihr hinaus zu transportieren. Dazu gehören u.a. der Natrium-/Protonen-Antiporter (Na/H-Antiporter) sowie der Kalzium-/Natrium-Antiporter (Ca/3Na-Antiporter), die Protonen bzw. Kalzium im Austausch mit Natrium in den extrazellulären Raum befördern.

Unter hypoxischen oder gar anoxischen Zuständen ist die Energiegewinnung durch den aeroben Metabolismus stark eingeschränkt bis erloschen. Die Zellen haben lediglich die Möglichkeit, den Energiebedarf durch den weit weniger effizienten Weg des anaeroben Metabolismus zu decken. Hierbei entsteht als Endprodukt Laktat, welches durch Dissoziation die intrazelluläre Protonenkonzentration erhöht. Da durch diese Art der Energiegewinnung lediglich 2 mol ATP/mol Glucose im Vergleich zu 32-34 mol ATP/mol Glucose bei oxidativer Phosphorylierung gewonnen werden können, ist der Verbrauch von ATP größer als durch die Produktion realisiert werden kann. Dies bewirkt eine Aktivitätsabnahme der Transportsysteme. Um diesem hohen Verbrauch entgegenzuwirken, wird die Lunge während der Lagerung gekühlt. Dadurch sinkt die Aktivität der Enzyme um das 1,5-2fache je 10°C Temperaturreduktion (Clavien et al. 1992, De Perrot et al. 2003). Auch hierbei verschiebt sich das ionale Gleichgewicht, weil die aktiven Transportsysteme dem Einstrom von Natrium und Kalzium nicht mehr ausreichend standhalten können. Die Erhöhung der intrazellulären Natriumkonzentration wird außerdem durch die Azidose gefördert, denn aufgrund der intrazellulär erhöhten Protonenkonzentration ist der Ionenaustausch über den Na/H-Antiporter, der als sekundär aktiver Transporter dem Konzentrationsgradienten folgt, sehr groß. Dies wird durch die Reperfusion weiter verstärkt, weil es durch die rasche Normalisierung des extrazellulären pH-Wertes durch den Blutstrom zu einem größeren Gradienten zwischen intra- und extrazellulärer Protonenkonzentration kommt. Durch die jetzt massiv erhöhte intrazelluläre Natriumkonzentration werden verschiedene Mechanismen ausgelöst. Zum einen folgen aus Gründen der Elektroneutralität passiv Chloridionen ins Zellinnere. Hierdurch wird die Osmolarität erhöht, und Wasser strömt ein. Es kommt zum intrazellulären Ödem (Till 1999). Zweitens wird der transzelluläre Flüssigkeitstransport, der ebenfalls durch die Na/K-ATPase aufrechterhalten wird, durch die Elektolytverschiebung reduziert, wodurch die alveoläre Clearance abnimmt. Die Folge ist ein alveoläres Ödem (Ware et al. 1999). Drittens werden die Zellen durch den Natriumanstieg depolarisiert, was eine Öffnung verschiedenster Ionenkanäle, die im

Rahmen der Signaltransduktion von Bedeutung sind, zur Folge hat. Dadurch und durch die Entleerung intrazellulärer Speicher kommt es zum massiven Anstieg des intrazellulären Kalziums. Kalzium wiederum ist von entscheidender Bedeutung in zellulären Regulationsvorgängen. Durch seine Bindung an Calmodulin werden zahlreiche Enzymsysteme aktiviert, unter ihnen eine Unterform der zytosolischen Phospholipase A₂, die Arachidonsäure aus Triglyceriden freisetzt. Außerdem wird die Umwandlung der Xanthindehydrogenase in die Xanthinoxidase, durch den Kalzium-/Calmodulin-Komplex katalysiert, ausgelöst. Diese benutzt molekularen Sauerstoff anstelle von NAD für den Abbau von Hypoxanthin und Xanthin in Harnsäure und bildet als ein Nebenprodukt Superoxidanionen. Die entstehenden Sauerstoffradikale schädigen durch Lipidperoxidation zelluläre und subzelluläre Membranen. Eine weitere Wirkung erhöhter intrazellulärer Kalziumkonzentrationen ist die Auslösung von Kontraktionen in kontraktile Zellen, wie z.B. den glatten Gefäßmuskelzellen, was somit zu Vasokonstriktion und erhöhter Permeabilität führt. Dadurch wird der Entstehung eines Lungenödems weiter Vorschub geleistet (Clavien et al. 1992, Till 1999). In Abb.1 ist die Elektrolytverschiebung während Ischämie und früher Reperfusion schematisch dargestellt.

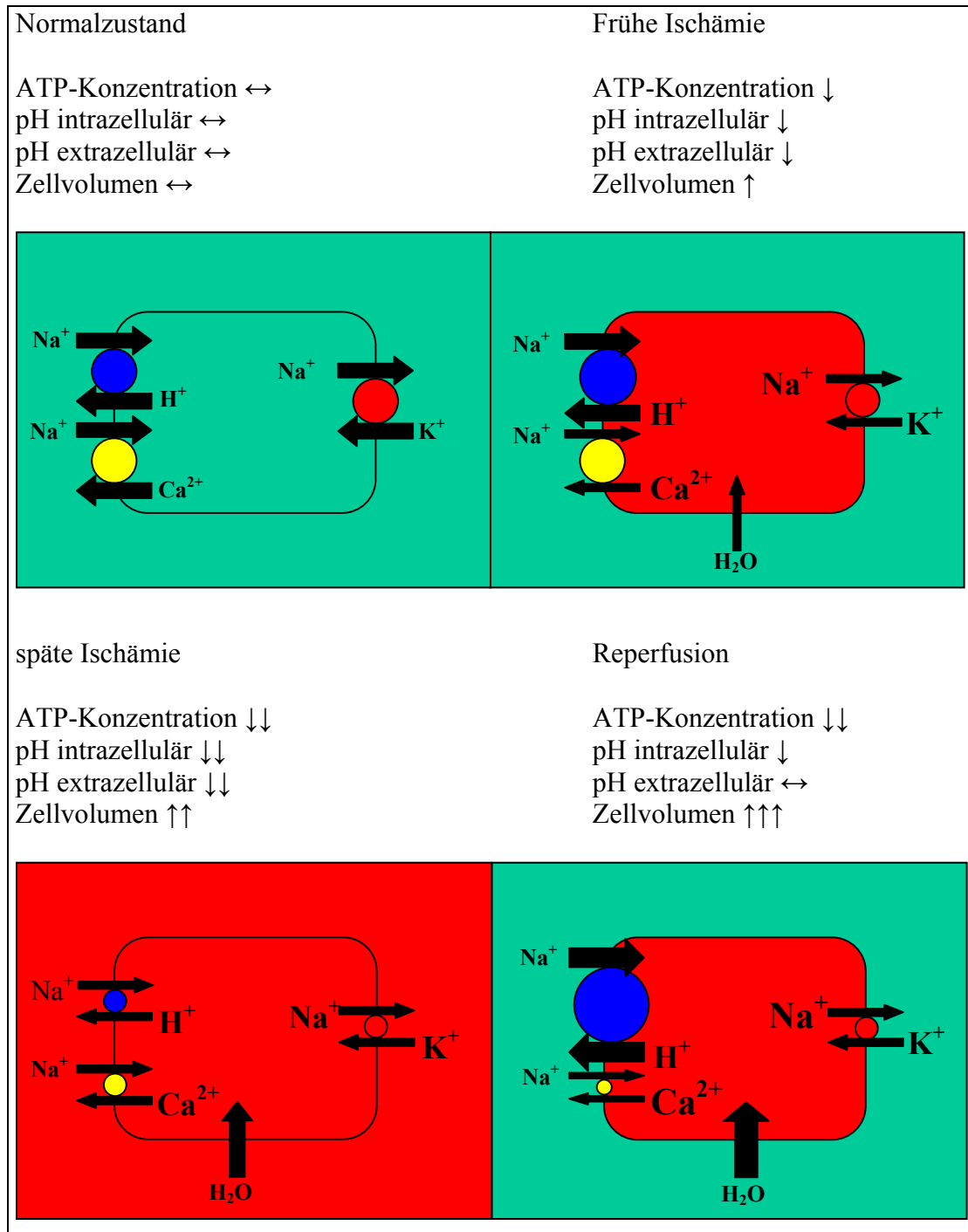


Abb.1: (mod. nach (Till 1999)) Schematische Darstellung der Änderung der Verteilung wichtiger Kationen im intra- und extrazellulären Raum während Ischämie und früher Reperfusion. Die durch einen roten Kreis dargestellte Na^+/K^+ -ATPase ist ein energieabhängiger Transporter, die anderen beiden Transportsysteme (blauer und gelber Kreis) arbeiten sekundär aktiv, d.h. sie werden durch den mittels Na^+/K^+ -ATPase aufrechterhaltenen Na^+ -Gradienten angetrieben. Die Größe der Kreise und Pfeile verdeutlicht den Aktivitätszustand der Transporter relativ zum Normalzustand, die Größe der Kationen repräsentiert die Konzentration dieser im Vergleich zum Normalzustand. Grüner Hintergrund steht für einen neutralen pH-Wert, roter Hintergrund für einen sauren pH-Wert. Zeichenerklärung: ↔ normal, ↑ erhöht, ↓ vermindert

1.1.1.1.2 Oxidativer Stress

Im Rahmen der Hypoxie und der Ischämie entstehen auf verschiedenen Wegen reaktive Sauerstoffradikale, unter ihnen das Superoxidanion (O_2^-), das Hydroxylradikal (OH^\cdot), Wasserstoffperoxid (H_2O_2) sowie der Singulett-Sauerstoff (1O_2). Diese sehr instabilen Metabolite haben eine extrem kurze Halbwertszeit und reagieren mit nahezu allen biologischen Substanzen. Dadurch kommt es u.a. zur Lipidperoxidation biologischer Membranen, die durch diesen Prozess im Sinne einer Kettenreaktion destabilisiert werden. Auch die Lipidfraktion im Surfactantfilm ist ein Angriffspunkt der Radikale. Dieses verliert hierdurch seine oberflächenspannungsreduzierende Funktion. Die Lipidperoxidation führt zur Entstehung weiterer Radikale. Durch Kettenbrüche in den Lipidperoxiden wird Malondialdehyd freigesetzt, das als direkter Marker für die Schwere der Lipidperoxidation genutzt werden kann. Die Produktion von Sauerstoffradikalen geschieht aber auch physiologischerweise bei der Abwehr pathologischer Keime im Rahmen der Entzündungsreaktion. Die körpereigenen Zellen schützen sich vor der schädlichen Lipidperoxidation durch verschiedene Enzymsysteme, die die Radikale in unschädliche Verbindungen umsetzen. Dazu gehören die Superoxiddismutase, die Katalase und die Peroxidase. Auch einige Vitamine, wie z.B. Vitamin E, Vitamin C, β -Carotin sowie andere Substanzen, wie z.B. Harnsäure, reduziertes Gluthathion (red. GSH) haben Radikalfängercharakter. In ischämischen und hypoxischen Situationen sind diese Systeme jedoch aufgrund der massiven Produktion von Sauerstoffradikalen überfordert. Diese Reaktionen laufen auch noch bei Sauerstoffpartialdrücken ab, bei denen die Energiegewinnung durch oxidative Phosphorylierung schon nicht mehr möglich ist. Zum einen werden diese Substanzen durch die Xanthinoxidase produziert, die wie oben ausführlich beschrieben, unter dem Einfluss von Kalzium aus der Xanthindehydrogenase entsteht. Dieses Enzym besitzt eine hohe Aktivität, wenn die Konzentration seines Substrates Hypoxanthin ansteigt. Dies ist der Fall im Rahmen der Ischämie. Da die Zelle mehr Energie benötigt, als sie in der Lage ist zu produzieren, wird das energiereiche Phosphat ATP schrittweise über ADP und AMP zu Adenosin abgebaut, welches dann weiter in Hypoxanthin umgesetzt wird. Ein weiterer Weg zur Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies wird durch die NADPH-Oxidase katalysiert. Dieses Enzym kommt vor allem in Entzündungszellen wie Makrophagen, Monozyten und Granulozyten vor, ist aber auch in Endothelzellen aktiv. Endothelien reagieren sehr empfindlich auf Änderungen der

mechanischen Reizung durch den Blutstrom. Durch die Abwesenheit desselben nach Entnahme der Lunge depolarisieren diese Zellen und aktivieren verschiedene Enzymsysteme, unter ihnen die NADPH-Oxidase (De Perrot et al. 2003). Außerdem werden durch ortsständige Entzündungszellen, ebenfalls durch Aktivierung dieses Enzyms, weitere Sauerstoffradikale gebildet. Im Rahmen der Reperfusion, wobei wieder physiologische Sauerstoffkonzentrationen erreicht werden, wird die Produktion dieser schädlichen Substanzen weiter massiv erhöht. Neben diesen beiden wichtigen Wegen der Produktion von reagiblen Sauerstoffmetaboliten ist auch freies Eisen durch die Fenton-Reaktion in der Lage, diese zu produzieren. Normalerweise ist es aufgrund dieser und weiterer zytotoxischer Einflüsse zum großen Teil an Proteine gebunden. Durch Azidose, Proteolyse und durch schon vorhandene Superoxide wird es aus Ferritin, Transferrin und Cytochromen freigesetzt und kann seine pathologische Wirkung vollziehen (Zhao et al. 1997, Fischer et al. 2000a). Durch progrediente Schädigung der Zellen bis hin zur Lyse gelangt es in die Zirkulation und führt neben der Produktion von Sauerstoffradikalen zur Aktivierung der Plättchenaggregation (Pratico et al. 1999). Die wichtigsten Entstehungswege von Sauerstoffradikalen während Ischämie und Reperfusion sind in Abb.2 schematisch dargestellt.

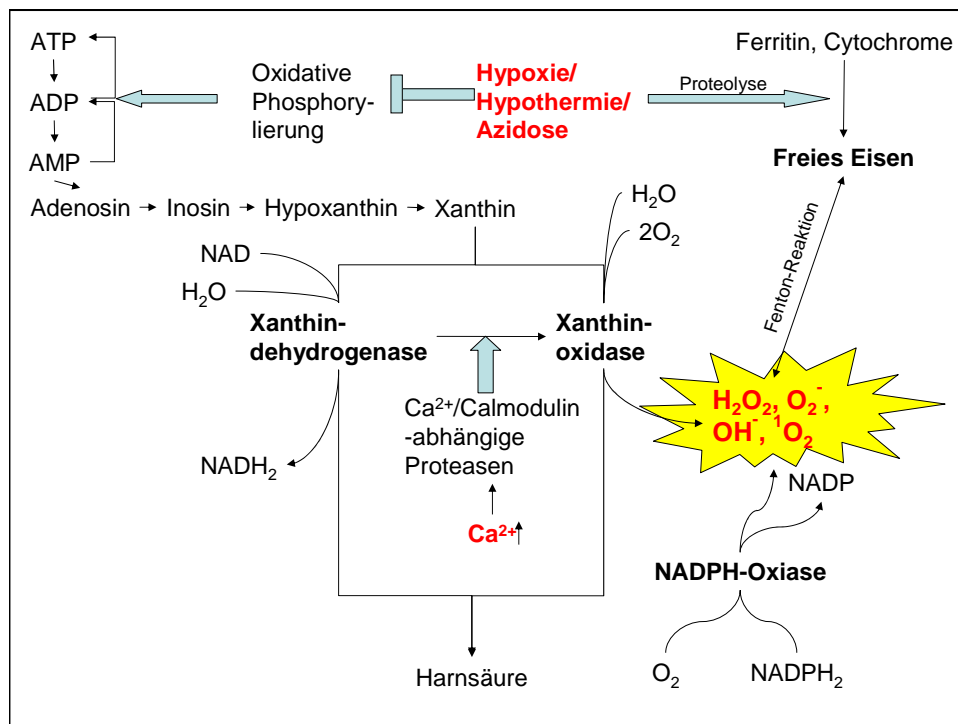


Abb.2: Darstellung der 3 wichtigsten Wege der Entstehung von Sauerstoffradikalen (Enzymsysteme fett gedruckt). Zeichenerklärung: **↑** fördert, **⊥** hemmt

1.1.1.1.3 Zelltod

Durch histologische Untersuchungen transplantierte Lungen mit guter Organfunktion fand man, dass 2 Stunden nach Reperfusion bis zu 30% der Zellen an Apoptose zugrunde gingen. Die Zahl der Zellen, die apoptotisch waren, korrelierte allerdings nicht mit der Organfunktion (Fischer et al. 2000a). Bei Organen, die sehr langen Ischämiezeiten ausgesetzt waren, konnten in der Reperfusionsphase kaum Zellen gefunden werden, die durch diesen programmierten Zelltod zugrunde gingen, allerdings war die Zahl der nekrotischen Zellen massiv erhöht (Fischer et al. 2000b). Die Apoptose tritt im Gegensatz zur Nekrose erst in der Reperfusionsphase auf und ist eine elegante Methode der Beseitigung geschädigter Zellen ohne begleitende Entzündungsreaktion. Der Anteil der Nekrose hingegen deutet auf die Zellen hin, die einen schweren I/R-Schaden durch Lipidperoxidation und Kalziumüberladung erlitten haben und geht mit einer begleitenden Entzündung einher, die weitere Zellen schädigt. Aufgrund dieses Mechanismus korreliert der Grad der Nekrose negativ mit der postoperativen Lungenfunktion (Fischer et al. 2000a, Fischer et al. 2000b, Stammberger et al. 2000b).

1.3.1.2 Entzündliche Prozesse

1.1.1.1.4 Expression von Adhäsionsmolekülen

Neben den oben beschriebenen Reaktionen findet parallel eine durch die Ischämie und Zellschädigung ausgelöste Entzündungsreaktion statt, die noch weit in die Reperfusionsphase hinein anhält und deren Ausprägung entscheidenden Einfluss auf das Ausmaß des I/R-Schadens hat. Hierbei kommt neben der Entzündungsreaktion im Parenchym der Lunge auch dem Endothel eine entscheidende Funktion zu.

Durch die Hypoxie exprimieren die Endothelzellen eine Reihe von Adhäsionsmolekülen auf ihrer Oberfläche, die wechselseitig mit Molekülen auf der Zellmembran von Leukozyten reagieren und deren Adhäsion sowie Migration ins Lungenparenchym vermitteln. Diese Moleküle werden in 3 große Familien unterteilt: die Selektine, die Immunglobulin-Superfamilie und die Integrine. In der Phase der Ischämie und in der Frühphase der Reperfusion werden vor allem die P-Selektine exprimiert. Diese Proteine werden in sog. Palade-Weibel-Körperchen intrazellulär gespeichert und durch Hypoxie an die Zelloberfläche verlagert (Pinsky et al. 1996). P- und die später exprimierten E- und L-Selektine reagieren mit dem auf der Membranoberfläche von Monozyten und neutrophilen Granulozyten vorhandenen Sialyl-Lewis-X-Antigen und vermitteln somit

den ersten Kontakt, der die Leukozyten abbremst. Diesen Prozess bezeichnet man als Rollen. Durch weitere Adhäsionsmoleküle und vermittelnde Mediatoren wie Zytokine, insbesondere IL-8, wird eine feste Adhäsion vermittelt, die die Grundlage der Extravasation und Migration der Leukozyten darstellt (Till 1999).

1.1.1.1.5 Produktion von Zytokinen

Ein weiterer Mechanismus der entzündlichen Reaktion während Ischämie und Reperfusion des zu transplantierenden Organs ist die Produktion von Zytokinen. Hierbei sind in beiden Phasen messbare Anstiege von $\text{TNF-}\alpha$, $\text{INF-}\gamma$, IL-8, IL-10, IL-12 und IL-18 zu verzeichnen. Die Konzentration der meisten Zytokine nimmt während der weiteren Reperfusion wieder ab, IL-8 dagegen nimmt weiterhin zu (Serrick et al. 1994, De Perrot et al. 2002). Dieses Interleukin ist ein chemotaktischer Faktor zur Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten und ist entscheidend an der Adhäsion und Migration dieser Zellen ins Lungenparenchym beteiligt. Es wird durch eine Vielzahl von Zellen produziert, u.a. durch Leukozyten, Monozyten, Endothelzellen und Fibroblasten. Als Stimulus für die Expression dieses Zytokins dienen die Mediatoren der akuten Entzündungsphase, IL-1, IL-6 und $\text{TNF-}\alpha$, die ebenfalls von Monozyten, Fibroblasten, Epithel- und Endothelzellen gebildet werden (Till 1999). Die Serumkonzentration von IL-8 korreliert auch gut mit dem Grad der Transplantatdysfunktion. Hohe Werte spiegeln ein gesteigertes Risiko der akuten oder chronischen Transplantatabstoßung wieder (De Perrot et al. 2002). Eine erhöhte Konzentration an antiinflammatorischem IL-10 hingegen korreliert mit einer guten postoperativen Organfunktion (De Perrot et al. 2001). Mit dem Alter des Spenders nimmt die Konzentration dieses Zytokins ab. Dies wiederum könnte die höhere Empfindlichkeit von Organen älterer Spender gegenüber dem I/R-Schaden erklären (De Perrot et al. 2002).

1.1.1.1.6 Leukozytenaktivierung

Wie schon oben mehrfach erwähnt, leiten viele Mechanismen die Adhäsion und Migration von Leukozyten ins Lungenparenchym ein. Im Gewebe tragen diese Zellen durch verschiedene Schädigungsmechanismen, wie z.B. Produktion von Sauerstoffradikalen und Phagozytose, entscheidend zur Entstehung des I/R-Schadens bei. Die Leukozytenreaktion ist hierbei biphasisch (Eppinger et al. 1995b, Eppinger et al. 1997, Fiser et al. 2001a). Während der ischämischen Lagerungsphase sowie in der

Frühphase der Reperfusion sind spendereigene Makrophagen die wichtigsten Effektoren. Sie produzieren unter dem Einfluss der Hypoxie und des oxidativen Stresses eine Reihe von Zytokinen, unter ihnen $\text{TNF-}\alpha$, $\text{INF-}\gamma$, IL-1 und IL-6. Diese wirken als chemotaktische Faktoren und Aktivatoren für Empfänger-Lymphozyten und Leukozyten und vermitteln die akute Phase der Entzündung. Außerdem produzieren sie prokoagulatorische Substanzen. Die zweite Phase der Schädigung durch Leukozyten wird durch Empfängergranulozyten vermittelt, die innerhalb der ersten 24 Stunden einwandern.

1.1.1.1.7 Bioaktive Lipidabkömmlinge

Während der Ischämie des Organs kommt es durch verschiedene Prozesse zur Aktivierung von Lipasen, unter ihnen die Phospholipase A_2 (PLA_2). Dieses Enzym spaltet aus Phospholipiden die mehrfach ungesättigte Arachidonsäure ab. Diese Fettsäure kann auf zwei Wegen zu bioaktiven Substanzen umgewandelt werden. Zum einen entstehen unter dem Einfluss der Cyclooxygenase (COX) Thromboxan A_2 (TXA_2) sowie die verschiedenen Prostaglandine. Durch die Lipoxygenase wird die Arachidonsäure in die Leukotriene umgesetzt. Thromboxan A_2 ist ein potenter Vasokonstriktor, der auch eine gesteigerte Thrombozytenaggregation vermittelt. Physiologischerweise wird er von Thrombozyten freigesetzt und fördert die Blutgerinnung. Sein Gegenspieler Prostaglandin I_2 (PGI_2 =Prostazyklin) wird vorwiegend in den Endothelzellen produziert. Er vermittelt eine Vasodilatation und hemmt die Blutgerinnung. Die Wirkung der Leukotriene besteht in einer Erhöhung der Kapillarpermeabilität. Die PLA_2 hat aber noch weitere Funktionen. Sie kann die Produktion von PAF (platelet-activating factor) induzieren (De Perrot et al. 2003). PAF hat wiederum eine Vielzahl von Wirkungen. Es führt u.a. zur Thrombozytenaggregation, ist chemotaktischer Faktor für Leukozyten, vermittelt deren Adhäsion und Migration durch Induktion der Expression von Adhäsionsmolekülen sowie Metalloproteinasen, erhöht die Permeabilität der Kapillaren und induziert die Produktion zahlreicher Zytokine (Miotla et al. 1998). Eine Isoform der PLA_2 , Gruppe II der sekretorische PLA_2 , trägt auch auf direktem Weg durch Inaktivierung des extrazellulären Surfactant zur Transplantatdysfunktion bei (Arbibe et al. 1998). Dies äußert sich in einem Anstieg des pulmonalen Ödems, Hypoxämie und einer deutlichen Reduktion der Compliance (Casals et al. 1998).

1.1.1.1.8 Komplementaktivierung

In den letzten Jahren wurde die Bedeutung des unspezifischen Immunsystems im Rahmen des I/R-Schadens erkannt (Naka et al. 1997). Die Aktivierung des Komplementsystems geschieht auf zwei verschiedenen Wegen. Der klassische Weg wird durch Immunglobuline, insbesondere der IgM-Klasse, ausgelöst. Diese Form der Initiation der Komplementkaskade spielt aber bei der Lungentransplantation nahezu keine Rolle. Entscheidender ist hier der alternative Weg, bei dem sich Komplementfaktoren auf der Oberfläche von Zellen anlagern und dort aktiviert werden. Hier gibt es einen natürlichen Antagonisten, den Komplement-Rezeptor 1 (CR-1), der die Aktivierung von Komplement auf Zellen verhindern soll. Da aber während der Ischämie zahlreiche Veränderungen auf der Zellmembran stattfinden, lagert sich der Komplementfaktor C3 vermehrt auf diesen ab. Dadurch ist der CR-1 überlastet und es kommt zur Aktivierung von C3 durch Spaltung in seine Bruchstücke C3a und C3b. Dies löst die Anlagerung von C5 aus, der ebenfalls in seine Bruchstücke C5a und C5b gespalten wird. C3a und C5a sind die sog. Anaphylatoxine, die eine starke chemotaktische Wirkung auf Leukozyten ausüben. Durch Anlagerung weiterer Faktoren an C5b entsteht der terminale Komplex (membrane attack complex=MAC, C5b6789) der als transmembranöse Pore zur Lyse der Zielzelle führt. C3a und C3b haben außerdem noch eine thrombozytenaggregationsfördernde Funktion (Till 1999).

1.1.1.1.9 Endothelin

Endotheline (ET) sind sehr starke Vasokonstriktoren mit der 10-fachen Potenz von Angiotensin II (AT II). Man unterscheidet 3 Isoformen, ET-1, ET-2 und ET-3, wobei ET-1 am besten untersucht ist. Es wird von Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen produziert und wird in der Lunge am stärksten exprimiert (Boscoe et al. 2000). Hierbei führt es vor allem zur Vasokonstriktion in den Venolen und im venösen Schenkel und reguliert dadurch den regionalen Blutfluss und die Blutverteilung in der Lunge. Bei Hypoxie wird es vermehrt ausgeschüttet und verringert damit normalerweise die Durchblutung nichtbelüfteter Lungenbereiche. Da bei der Lagerung hypoxische Bedingungen herrschen, ist seine Produktion hier erhöht. Außerdem dient es als Marker für die Schwere des I/R-Schadens (Mizutani et al. 1998, Shennib et al. 1998, Stammberger et al. 1999), da auch hier die Sauerstoffaufsättigung des Blutes behindert ist. Neben seiner vasokonstriktiven Wirkung kann es die Leukozytensequestration in der Lunge, eine Steigerung der Permeabilität durch Co-Expression von VEGF sowie die

Produktion von Zytokinen bewirken (Taghavi et al. 2002, Carpenter et al. 2003). Ebenfalls wird durch Endothelin die Freisetzung von PAF aus neutrophilen Granulozyten erhöht (Gomez-Garre et al. 1992).

1.4 Grundprinzipien der Lungenkonservierung

Aus den Erfahrungen der letzten Jahrzehnte mit der Organkonservierung sind einige essentielle Grundprinzipien der Konservierung entstanden. Dazu gehören neben der Hypothermie, durch die der Energieverbrauch der Zellen reversibel gesenkt wird, sowie weiteren Einflussfaktoren wie pH-Wert, Zusammensetzung der Lösung, Perfusionsdruck und Perfusionsvolumen, Ventilation und pulmonaler Inflationszustand bei Lagerung und nicht zuletzt die Zugabe von Adjuvantien. Durch die gezielte Beeinflussung dieser Parameter soll der funktionelle und strukturelle Schaden minimiert werden (De Perrot et al. 2003).

1.1.5 Temperatur

Über die ideale Perfusionstemperatur herrscht in der internationalen Literatur noch Uneinigkeit. Lediglich eine Kühlung auf 0°C und darunter wird einheitlich abgelehnt, da es durch den thermischen Schock zur irreversiblen Schädigung der Zellen und ihrer Enzymsysteme kommt (De Perrot et al. 2003). Ein gewisser Grad der Hypothermie ist allerdings notwendig, um das Überleben der Zellen zu sichern. Ohne Kühlung ist der Energieverbrauch so hoch, dass binnen kurzer Zeit eine totale Organnekrose zu erwarten ist. In der klinischen Lungentransplantation ist 4°C als Perfusionstemperatur der übliche Standard (Padilla und Padilla 2004). Durch die Hypothermie wird der Metabolismus der Zellen reversibel gesenkt. Die meisten Enzymsysteme reduzieren ihre Aktivität um das 1,5-2fache je 10°C Temperatursenkung. Dadurch allein wird schon eine enorme Ausweitung der möglichen Ischämiezeit erreicht. Einige Arbeitsgruppen sehen allerdings Temperaturen im Bereich zwischen 10 und 22°C als ideal an, denn zu niedrige Temperaturen führen zur Vasokonstriktion und somit zu einer inhomogenen Organperfusion. Ebenso kommt es hierbei zur Steigerung der Permeabilität des pulmonalen Endothels, was eine Zunahme der interstitiellen Flüssigkeit bedingt (Wang et al. 1993, Albes et al. 1997b, Wittwer et al. 1999). Allerdings sind diese Ergebnisse in Studien mit Kleintiermodellen beschrieben worden, die nicht in jeder Hinsicht auf den Menschen übertragen werden können. Durch die wesentlich kleineren Organe kann auch mit einer Perfusatemperatur über 10°C eine gleichmäßige und schnelle Kühlung

der Lunge erreicht werden (De Perrot et al. 2003). Bei größeren Tieren sowie dem Menschen hingegen dürfte die Kühlung mit solchen Temperaturen in der Kürze der Flush-Perfusion nicht ausreichen, um eine adäquate Kerntemperatur von 15°C zu erreichen. Studien haben gezeigt, dass trotz einer Temperatur von 4°C der Konservierungslösung die Lungenkerntemperatur nicht unter 15°C fällt (Mayer et al. 1992). Dies ist zum einen durch die kurze Kontaktzeit des Perfusats mit dem Endothel der Gefäße, zum anderen durch den Isolationseffekt der mit Raumtemperatur ventilierten Alveolen zu erklären. Auch als optimale Lagerungstemperatur wird klinisch zurzeit 4-8°C empfohlen, obwohl einige experimentelle Versuchsreihen bessere Resultate bei 10°C ergeben haben. Diese Ergebnisse wurden aber ebenfalls nicht von allen Gruppen bestätigt (De Perrot et al. 2003). Die höheren Lagerungstemperaturen führen bei längerer Ischämiezeit aufgrund der höheren Enzymaktivitäten zu einem Anstieg der metabolischen Endprodukte und zu einem höheren Verbrauch energiereicher Phosphate. Deshalb ist hierbei eine genaue Überwachung erforderlich, um mögliche Nachteile durch zu hohe Temperaturen zu minimieren (Sasaki et al. 1996, De Perrot et al. 2003). Obwohl die Hypothermie notwendig ist, werden hierdurch einige schädliche Folgen provoziert. Wie schon erwähnt, werden durch die Hypothermie der Metabolismus der Zellen und die Aktivität vieler Enzyme gemindert. Betroffen ist auch die Na/K-ATPase, für die unter Normothermie bis zu 2/3 des von der Zelle verbrauchten ATP's benötigt wird. Durch die Aktivitätsminderung reichert sich in den Zellen Natrium an. Die Folgen der erhöhten intrazellulären Natriumkonzentration wurden bereits im Rahmen der Besprechung des I/R-Schadens erwähnt. Da die Hypothermie wichtig ist, ist es grundsätzlich das Ziel der Organprotektion, durch die Art der Konservierungslösung und eventuelle Zugabe von Adjuvantien deren negative Effekte zu minimieren.

1.1.6 pH-Wert

Bezüglich des idealen pH-Wertes der Konservierungslösung existieren nur wenige Untersuchungen. Diese sehen aber übereinstimmend einen leicht alkalischen pH-Wert im Bereich von 7,4–7,8 als optimal an, da hierbei im Vergleich zu alkalischeren oder saureren Lösungen die besten strukturellen und funktionellen Ergebnisse zu verzeichnen waren. Auch zur Benutzung von Perfadex[®] wird daher eine Einstellung des pH-Wertes auf 7,4 empfohlen (Hiramatsu et al. 1994, Shiraishi et al. 1994).

1.1.7 Perfusionsdruck und -volumen

Ein wichtiger Aspekt der Konservierung ist der Druck, mit dem das Perfusat die Lunge durchströmt. Da das pulmonale Gefäßsystem ein Niederdrucksystem mit physiologischen Mitteldruckwerten von 15 mmHg ist, ist anzunehmen, dass ein Perfusionsdruck in diesem Bereich die besten Konservierungsergebnisse erlaubt. Dies konnte durch Sasaki und Mitarbeiter im Tierversuch bestätigt werden. Sie empfehlen 10-15 mmHg als optimalen Perfusionsdruck. Wesentlich niedrigere Werte sollen zu einer unvollständigen Auswaschung des pulmonalen Gefäßsystems führen. Bei Drücken, die 20 mmHg überschreiten, kommt es zu einer signifikant niedrigeren NO-Produktion durch die Endothelzellen und somit zur Ausprägung einer pulmonalen Hypertonie unmittelbar postoperativ (Sasaki et al. 1996). Bezüglich des Perfusionsvolumens gibt es wenig Literatur. Nachdem anfangs geringe Mengen der Konservierungslösung (3-5ml/kg KG) verwendet wurden, ging die Entwicklung aufgrund enttäuschender Ergebnisse in Richtung größerer Volumina in kürzerer Zeit. 1986 stellte Haverich fest, dass durch die Gabe von 60ml/kg KG mit einer hohen Flow-Rate signifikant bessere Ergebnisse zu verzeichnen waren (Haverich et al. 1986). Steen empfiehlt sogar die Benutzung von 150-180 ml/kg KG, um eine gleichmäßigere und vollständige Auswaschung zu erreichen (Steen et al. 1993, Steen et al. 1994, Haniuda et al. 1996). Im Rahmen der klinischen Lungentransplantation werden zumeist 60 ml/kg KG eingesetzt, entsprechend den Empfehlungen von Haverich (Hopkinson et al. 1998).

1.1.8 Ventilation und Inflation

Während der Perfusion der Lunge durch das Konservierungsmedium sollte die Ventilation aufrecht erhalten werden, denn durch die Beatmung wird aufgrund der Entfaltung der Alveolen und des O₂-Gehaltes derselben eine Senkung des pulmonalvaskulären Widerstandes (PVR) bewirkt und somit die homogenere Verteilung der Konservierungslösung erreicht (Padilla und Padilla 2004). Ebenfalls wird der isolierende Effekt der Raumluft genutzt, der einer Schädigung des Organs durch Erfrierungen entgegenwirkt. Während der Lagerung und des Transportes ist eine Ventilation nicht nötig, da zum einen durch Inflation von 50% der totalen Lungenkapazität vergleichbare Ergebnisse erzielt werden können und sie zum anderen sehr aufwendig wäre (Decampos et al. 1998). Eine Hyperinflation sollte unbedingt vermieden werden, denn dadurch kommt es durch Überdehnung des Organs zum

Barotrauma. Ebenso steigt hierdurch die Permeabilität der Kapillaren. Ein Lungenödem ist die Folge (Aoe et al. 1996, Haniuda et al. 1996). Obwohl einige Arbeitsgruppen die Lagerung im atelektatischen Zustand empfehlen, sind durch einen gewissen Grad der Inflation durch drei Mechanismen bessere Resultate zu erwarten. Erstens kann während der Belüftung der Alveolen der effizientere aerobe Metabolismus aufrechterhalten werden, wodurch weniger saure Endprodukte wie Laktat anfallen. Ebenso wird dadurch die Zahl der nekrotischen Zellen gesenkt. Zweitens werden die Produktion und die Funktion des alveolären Surfactant wesentlich besser konserviert als im atelektatischen Zustand. Drittens ist der transepitheliale Flüssigkeitstransport und somit die pulmonale Clearance signifikant höher (De Perrot et al. 2003). Ein weiterer wichtiger Punkt ist der Sauerstoffgehalt des Gases. Ein F_{iO_2} von mehr als 0,5 führt zur verstärkten Lipidperoxidation durch vermehrte Bildung von Sauerstoffradikalen und sollte deshalb vermieden werden (Fisher et al. 1991, Date et al. 1993). Fukuse und Mitarbeiter berichten über die besten Resultate bei einer Sauerstoffkonzentration von 5% im ex vivo Rattenmodell (Fukuse et al. 2001). Seit langem wird in der klinischen Praxis ein Gehalt von 30-50% O_2 mit guten Ergebnissen verwendet (Haverich et al. 1985).

1.1.9 Konservierungslösungen

Nach Erläuterung einiger wichtiger prinzipieller Bedingungen der Lungenkonservierung sollen im Folgenden eine Auswahl klinisch und tierexperimentell gebräuchlicher Perfusionslösungen näher betrachtet werden. Die Zusammensetzung der einzelnen Perfusate wird in Tab.2 zusammengefasst. Konservierungslösungen werden im Rahmen der Single-Flush-Perfusion eingesetzt, um die Vitalität, Reagibilität und Funktion des Parenchyms sowie der glatten Gefäßmuskelnzellen und des Endothels bestmöglich zu erhalten. Dies wird in unterschiedlichem Ausmaß durch die einzelnen Lösungen gewährleistet.

Tab.2: Zusammensetzung einiger ausgewählter Konservierungslösungen

Komponente	EC [®]	UW [®]	Celsior [®]	LPD	Perfadex [®]
Elektrolyte (Ionen)					
Natrium (mmol/l)	10	30	100	168	138
Kalium (mmol/l)	115	125	15	4	6
Magnesium (mmol/l)	0	5	13	0	0,8
Kalzium (mmol/l)	0	0	0,26	0	0
Chlorid (mmol/l)	15	0	41,5	103	142
Puffersubstanzen					
Sulfat (mmol/l)	0	5	13	0	0,8
Phosphat (mmol/l)	57,5	25	0	36,7	0,8
Bicarbonat (mmol/l)	10	0	0	0	0
Histidin (mmol/l)	0	0	30	0	0
Kolloide					
Dextran 40kD (%)	0	0	0	2	5
Hydroxyethylstärke (%)	0	5	0	0	0
Impermeantien					
Mannitol (mmol/l)	0	0	60	0	0
Glucose (mmol/l)	3,5	0	0	0	0,9
Raffinose (mmol/l)	0	30	0	0	0
Glutamat (mmol/l)	0	0	20	0	0
Lactobionat (mmol/l)	0	100	80	0	0
Radikalfänger					
Red. GSH (mmol/l)	0	5	3	0	0
Allopurinol (mmol/l)	0	1	0	0	0
ATP-Vorstufen					
Adenosin (mmol/l)	0	3	0	0	0
Osmolarität (mOsmol/l)	355	327	360	285	295

Erklärung der verwendeten Abkürzungen: EC=Euro-Collins[®]-Lösung, UW=University of Wisconsin[®]-Lösung, Celsior=Celsior[®]-Lösung, LPD=low potassium dextran-Lösung, Perfadex= Perfadex[®]-Lösung

Als erste gebräuchliche Perfusionslösung wurde 1984 die für die Nierentransplantation entwickelte Euro-Collins[®]-Lösung (EC) nach tierexperimentellen Vorversuchen in die klinische Herz- und Lungentransplantation übernommen. Es handelt sich hierbei um eine kristalloide Lösung vom intrazellulären Typ, d.h. der Kaliumgehalt dieses Perfusats entspricht mit 115 mmol/l in etwa dem intrazellulären Wert. Dadurch sollte zum einen der osmotische Gradient zwischen dem zellulären und extrazellulären Kompartiment möglichst gering gehalten werden, um eine Wasserverschiebung in die Zelle und somit die Ausbildung eines zellulären Ödems zu verhindern. Des Weiteren sollte durch die zellähnliche Ionenzusammensetzung die Na/K-ATPase geschont werden (Baldwin et al. 1987). Allerdings stellte sich schon nach kurzer Zeit heraus, dass es durch den hohen Kaliumgehalt und die Hypothermie zu einer verstärkten Vasokonstriktion und als Folge zur ungleichmäßigen Perfusion des Organs kommt. Daraus resultiert eine inhomogene Auswaschung von Blutbestandteilen und eine unterschiedlich gut ausgeprägte Konservierungsleistung der einzelnen Lungenabschnitte (Kimblad et al. 1991, Fukuse et al. 1996). Diesem Problem wurde durch die Zugabe von Prostazyklin oder PGE₂ begegnet (Jurmann et al. 1987). Später konnten durch Senkung des Kaliumgehalts auf 40 mmol/l weitere Verbesserungen der Ergebnisse in der Konservierung mit Euro-Collins[®]-Lösung (EC) erzielt werden, da die niedrigere Kaliumkonzentration sich günstig auf die Funktion der Na/K-ATPase und das zelluläre Ödem auswirkt (Albes et al. 1997a). Der Zusatz von Glucose sollte den nötigen Energiebedarf decken und als antiödematöse Substanz dienen. Aufgrund ihrer geringen Größe diffundiert sie allerdings bei gesteigerter Permeabilität der Kapillaren ins Interstitium, kann dadurch ihre antiödematöse Aufgabe nicht erfüllen und bewirkt sogar eher das Gegenteil. Bikarbonat und Phosphat dienen als Puffersubstanzen, um die durch den anaeroben Metabolismus entstehenden Protonen abzufangen. Die modifizierte EC Lösung mit dem verminderten Kaliumgehalt und dem Zusatz von Prostazyklin ist zurzeit auch das klinisch gebräuchlichste Perfusat. Mit diesen Protektionen können derzeit maximale Ischämiezeiten von 6-8 Stunden bei guter Transplantatfunktion erzielt werden (Hopkinson et al. 1998).

Bereits seit 1991 ist die für die Lebertransplantation entwickelte University of Wisconsin[®]-Lösung (UW) auch für die Lungentransplantation gebräuchlich. Auch sie zählt zum intrazellulären Perfusattyp und wurde später aufgrund der Erkenntnisse bezüglich der modifizierten EC einer kaliumreduzierenden Verbesserung unterzogen. Wesentliche Vorteile dieser Lösung liegen in der Verwendung von Hydroxyethylstärke

(HAES), Raffinose und Lactobionat als antiödematöse Substanzen (Hopkinson et al. 1994). Raffinose, ein Trisaccharid mit einem mittleren Molekulargewicht von 594 D kommt hierbei eine besondere Bedeutung zu. Es verhindert die Entstehung eines zellulären und extrazellulären Lungenödems besser als Mono- und Disaccharide. Außerdem wird dieser Substanz eine sehr gute zytoprotektive Wirkung zugesprochen (Hopkinson et al. 1996). Lactobionat hat neben seiner antiödematösen Eigenschaft noch weitere nützliche Funktionen. Es wirkt als Kalzium-Chelatbildner einem übermässigen Influx von Kalziumionen in die Zelle mit den damit verbundenen Schädigungen entgegen. Daneben ist es auch ein potentes Antioxidans, das die Lipidperoxidation durch reaktive Sauerstoffspezies reduziert. Diese Eigenschaft haben auch die ebenfalls zugesetzten Substanzen Gluthathion und Allopurinol, wobei der letztgenannte Wirkstoff aufgrund einer kompetitiven Hemmung der Xanthinoxidase die Bildung des Superoxidanions vermindert. Durch die Zugabe von Adenosin soll das Substrat für die Produktion des energiereichen Phosphates ATP bereitgestellt werden. Auch bei der UW dienen Phosphat und Sulfat als Puffersubstanzen. Trotz dieser Verbesserungen der UW gegenüber der EC propagieren nur wenige Zentren die klinische Anwendung dieser Lösung (Hopkinson et al. 1998).

Nachdem Mitte der 80iger Jahre erste Versuche mit extrazellulären Perfusionslösungen wesentlich bessere Resultate in der Konservierung bei ausgeweiteter Ischämiezeit lieferten als die gebräuchlichen intrazellulären Lösungen, wurden weitere moderne Konservierungslösungen entwickelt. Eine davon stellt die kommerziell erhältliche Celsior®-Lösung dar (Menasche et al. 1994). Dieses primär für die Herztransplantation entwickelte Perfusat besitzt einen Kaliumgehalt von 15 mmol/l und einen Natriumgehalt von 100 mmol/l. Celsior® enthält als weiteres Elektrolyt Magnesium, welches die Kalziumhomöostase aufrechterhält und als Kofaktor bei verschiedenen metabolischen Reaktionen dient. Die Aminosäure Glutamat dient der Energieversorgung der Zellen. Als antiödematöse Substanzen sind Lactobionat und Mannitol zugesetzt, wobei auch hier wieder dem Lactobionat die oben beschriebenen Wirkungen als Chelatbildner und Antioxidans zukommen. Ebenso dienen auch das red. Gluthathion, Mannitol und Histidin als Antioxidantien. Histidin wirkt neben Sulfat auch als Puffersubstanz. Celsior® wird zurzeit noch in tierexperimentellen Studien untersucht und brachte im Kleintiermodell hervorragende Ergebnisse. Im Großtiermodell an Schweinen konnten die Ergebnisse jedoch bei Ausweitung der Ischämiezeit auf 27 Stunden von unserer Arbeitsgruppe nicht bestätigt werden. Alle Tiere starben innerhalb

der ersten 2 Stunden nach Reperfusion am fulminanten Ischämie-/Reperfusionsschaden (Wittwer 2002).

Aufgrund der Erkenntnisse des offensichtlichen Vorteils einer niedrigen Kaliumkonzentration wurde in Toronto (Kanada) von Keshavjee die LPD-Lösung (low potassium dextran) entwickelt. Diese Konservierungslösung wurde speziell für die Bedürfnisse der Lungentransplantation zusammengestellt und nach leichten Modifikationen unter dem Namen Perfadex[®] von der Firma Vitrolife in Göteborg (Schweden) kommerziell vertrieben. Neben einer Kaliumkonzentration von nur 4 (LPD) bzw. 6 mmol/l (Perfadex[®]) ist ihr noch Dextran 40 zugesetzt (Keshavjee et al. 1989). Der extrem niedrige Kaliumgehalt zeigte in Studien eine bessere Schonung des konservierten Gewebes durch Verminderung des strukturellen und funktionellen Schadens sowie durch eine Verringerung der Freisetzung von vasokonstriktiven Substanzen. Der Zusatz von Dextran mit einem mittleren Molekulargewicht von 40 kD hat ebenfalls mehrere günstige Eigenschaften. Zum einen erhält es die Verformbarkeit der Erythrozyten und vermindert deren Aggregation. Auch löst es bereits vorhandene Erythrozytenaggregate wieder auf. Des Weiteren hat es einen antithrombotischen Effekt durch die Abscheidung auf der Oberfläche von Thrombozyten und Endothelien, die es bedeckt. Durch diese Mechanismen wird vor allem die Mikrozirkulation entscheidend verbessert, und das sog. „No-reflow-phenomenon“, das eine Verminderung der Durchblutung verschiedener Lungenareale in der Reperfusionsphase durch Verschluss kleiner Gefäße darstellt, wird verhindert. Neben diesen rheologisch günstigen Eigenschaften kommt dem Dextran noch eine antiödematöse Bedeutung zu (Keshavjee et al. 1992). Durch den in Perfadex[®] enthaltenen Anteil von 5% wird der doppelte kolloidosmotische Druck des normalen Blutes aufgebracht. Dies senkt wirkungsvoll die Extravasation von Wasser und Proteinen (Spaggiari und Bobbio 1994). Außerdem werden die Zellschwellung minimiert und die Funktion der Zellen erhalten (Flores 1972, Jamison 1974, D'Allesandro 1986, Steen et al. 1993). Durch den Zusatz von 0,9% Glucose wird außerdem ein Substrat für die aerobe Energiegewinnung, die durch Inflation der Lunge mit einem bestimmten Anteil an Sauerstoff möglich ist, zur Verfügung gestellt. In vitro Studien zeigten, dass wesentliche Vorteile der LPD gegenüber UW und EC in dem suppressiven Effekt auf die Neutrophilenchemotaxis, der besseren Konservierung der Alveolarzellen Typ II und der besseren postischämischen Aktivität der Na/K-ATPase liegen (Carbognani et al. 1997, Suzuki et al. 2000). Hierdurch werden folglich die Lipidperoxidation durch reaktive Sauerstoffspezies

reduziert, die Surfactantfunktion und dessen Recycling erhalten bzw. verbessert und die Ausbildung eines Zellödems wirkungsvoll verhindert. Nachdem Keshavjee eine signifikant bessere Lungenfunktion im Vergleich mit EC nach 12 Stunden Ischämiezeit im in vivo Kaninchen-Modell durch Konservierung mit LPD zeigen konnte, wurde dies durch verschiedene weitere Untersuchungen bei Hunden, Schweinen und Primaten durch verschiedene Arbeitsgruppen bestätigt. Die Ischämiezeit konnte sogar bei guter Lungenfunktion auf bis zu 24 Stunden ausgeweitet werden (Keshavjee et al. 1989, Steen et al. 1993, Sundaresan et al. 1993, Steen et al. 1994). In einer kürzlich veröffentlichten retrospektiven klinischen Untersuchung fand Aziz jedoch keinen Unterschied in der Konservierungsleistung von Perfadex[®] und EC (Aziz et al. 2003). Dies ist aber darauf zurückzuführen, dass die besseren ultrastrukturellen Ergebnisse bei Konservierung mit Perfadex[®] ihre Überlegenheit bei kurzen Ischämiezeiten nicht signifikant beweisen können, da in dieser Konstellation mit anderen etablierten Konservierungslösungen auch gute Resultate erzielt werden können. Bei verlängerter Ischämiezeit sind Ergebnisse jedoch deutlich zugunsten von Perfadex[®] zu verzeichnen (Hausen et al. 1997a). Bei entsprechend guten Spendern konnte die tolerable Ischämiezeit erfolgreich auf 12 Stunden ausgedehnt werden. Ebenso konnte durch die Verwendung von Perfadex[®] die Zahl der Patienten mit manifestem I/R-Schaden von 30% auf 15% und darunter gesenkt werden (De Perrot et al. 2003). Zurzeit werden aber auch bei LPD noch weitere Verbesserungen angestrebt. Unter anderem sollen zukünftig weitere bewährte Substanzen anderer Konservierungslösungen, wie z.B. Raffinose, red. Gluthathion, Histidin und Lactobionat zugesetzt werden (De Perrot et al. 2003).

Auch weitere Zusammensetzungen wurden tierexperimentell getestet, aber keine konnte bisher in der klinischen Lungentransplantation die Euro-Collins[®]-Lösung verdrängen, obwohl die experimentellen Ergebnisse eine signifikante Überlegenheit der modernen extrazellulären Perfusate zeigen und viele Zentren mit der Konservierungsleistung der Euro-Collins[®]-Lösung nicht uneingeschränkt zufrieden sind (Hopkinson et al. 1998).

1.1.10 Applikation der Konservierungslösungen

Im klinischen Alltag wird die Konservierungslösung bei der Single-Flush-Perfusion durch die Pulmonalarterie appliziert und durch einen Einschnitt im linken Vorhof ausgeleitet (Baldwin et al. 1987). Dies entspricht dem physiologischen Blutfluss in der Lunge. Seit einigen Jahren wird der Vorzug einer retrograden Perfusion durch Verabreichung des Perfusats durch den linken Vorhof und Ableitung durch den Truncus

pulmonalis untersucht (Chen et al. 1997, Strüber et al. 2002, Wittwer 2002). Diese Form der Konservierung bietet gegenüber der antegraden Perfusion einige theoretische Vorteile, die experimentell bestätigt werden konnten. Hierzu muss die Blutversorgung der Lunge näher betrachtet werden. Die Lunge wird durch Vasa privata (Aa. bronchiales) und Vasa publica (Aa. pulmonales) mit Blut versorgt, die durch ein gemeinsames venöses System (Vv. pulmonales) drainiert werden. Durch diese Anatomie ist verständlich, dass durch eine retrograde Applikation nicht nur die Aa. pulmonales, wie bei der antegraden Perfusion üblich, sondern auch die Aa. bronchiales perfundiert und konserviert werden. Die Bedeutung der Bronchialarterien für die Integrität der Bronchialanastomose und die Versorgung der Bronchien wurde bereits erwähnt. Auch ohne den expliziten Anschluss dieser Arterien an den Blutstrom ist bei guter Konservierung der Endothelien dieser Gefäße eine ausreichende Versorgung des Gewebes durch Anastomosen zwischen kleineren Pulmonalarterienästen und Bronchialarterienästen gewährleistet. Ein weiterer Vorteil der retrograden Perfusion liegt in der Tatsache, dass die Konservierungslösung entgegengesetzt dem physiologischen Blutfluss eingeleitet wird. Dadurch besteht die Möglichkeit, Thromben und Thrombembolien in der pulmonalen Strombahn auszuspülen, die bei antegrader Applikation weiter in Richtung kleinerer Gefäße transportiert werden und zum Verschluss der dahinterliegenden Gefäße führen. Dies würde neben einer inhomogenen Perfusion und Konservierung die funktionelle Ausschaltung eines Teils der Lunge bewirken. Trotz dieser Vorteile ist, wie oben erwähnt, die antegrade Verabreichung der Konservierungslösung klinisch am meisten verbreitet, obwohl auch die retrograde Perfusion vereinzelt schon eingesetzt wird (Sarsam et al. 1993).

1.1.11 Adjuvantien

In den letzten Jahren hat das Verständnis des komplexen pathophysiologischen Geschehens des I/R-Schadens ständig zugenommen. Die Erkenntnis einzelner Mechanismen hat verschiedene Forschergruppen veranlasst, neben der Entwicklung neuer Konservierungslösungen auch eine pharmakologische adjuvante Therapie zur Beeinflussung der einzelnen Parameter anzustreben. Dies kann auf unterschiedlichem Weg geschehen. Durch eine Vorbehandlung des Spenders können Abläufe, die zur Entstehung eines I/R-Schadens führen, gezielt blockiert sowie potentiell protektive Effekte gefördert werden. Ähnliches kann durch die Zugabe des Pharmakons zur Konservierungs- und/oder Lagerungslösung erreicht werden. Ebenfalls möglich ist die

Behandlung des Empfängers, um Folgen des I/R-Schadens zu vermeiden oder die Reperusionsphase günstig zu beeinflussen. Da, wie schon erwähnt, dies ein komplexes Geschehen ist und der Stand der Erkenntnisse stetig zunimmt, gibt es eine Vielzahl an verschiedensten Ansatzmöglichkeiten, von denen hier nur einige näher erläutert werden sollen. Oftmals ist es sinnvoll, die unterschiedlichen Strategien zu verbinden, weil der Organismus oft in der Lage ist, bei Blockierung eines Weges andere, alternative Wege zu beschreiten.

1.4.1.1 Glucocorticoide

Der Einsatz von Glucocorticoiden oder deren pharmakologischer Analoga zur Behandlung von Spender und Empfänger ist aufgrund verschiedener Bedingungen sinnvoll. Durch den Hirntod des Spenders fallen auch die übergeordneten Schaltzentralen des Hormonsystems, der Hypothalamus und die Hypophyse, aus. Die Folge ist eine Störung verschiedener hormoneller Regelkreise, u.a. der Funktion der Nebenniere. Die hier produzierten Glucocorticoide können aufgrund mangelnder Stimulation nicht adäquat ansteigen, wodurch einer generellen Entzündungsreaktion Vorschub geleistet wird. Im Rahmen eines Polytraumas ist diese sogar noch wesentlich verstärkt. Follette konnte zeigen, dass eine einmalige Verabreichung von Methylprednisolon (15 mg/kg KG) an den Spender den P_{aO_2} erhöhen sowie die Erholung der Lunge verbessern kann (Follette et al. 1998). Glucocorticoide besitzen ausgeprägte antiinflammatorische und membranstabilisierende Effekte. Sie wirken der Chemotaxis und Aktivierung von Leukozyten entgegen, verhindern die Ausschüttung der Lysosomen, die schädigende Substanzen enthalten, sowie die Produktion toxischer Sauerstoffmetabolite. Durch eine Hemmung der Expression von VEGF vermindern sie indirekt die Gefäßpermeabilität und haben somit auch eine ödemprotektive Eigenschaft (Fischer et al. 2001a). Die Therapie des Empfängers mit Glucocorticoiden verhindert folglich nicht nur effizient eine stärkere Ausprägung des I/R-Schadens, sondern wirkt auch einer akuten Transplantatabstoßung durch seine immunsuppressiven Eigenschaften entgegen.

1.4.1.2 Prostaglandine

In der klinischen und experimentellen Lungentransplantation werden bevorzugt PGE_2 und Prostazyklin (PGI_2) eingesetzt, wobei PGE_2 am amerikanischen Kontinent und Prostazyklin in Europa bevorzugt wird. Prostazyklin wirkt über einen

membranständigen Rezeptor durch Aktivierung eines G-Proteins, welches wiederum die Adenylatzyklase aktiviert, die aus ATP den second messenger cAMP produziert. Dieser hat je nach Zelltyp unterschiedliche Funktionen, aktiviert aber im Wesentlichen verschiedenste Proteinkinasen. Einige schon lange bekannte Wirkungen des Prostazyklins sind die Vermittlung einer Vasodilatation, die Verminderung der Adhäsion von neutrophilen Granulozyten an das Endothel und die Hemmung der Thrombozytenaggregation. Neben diesen führt Prostazyklin zur Erhaltung einer physiologischen Endothelinkonzentration (Kawashima et al. 2003) und vermindert hierdurch eine unphysiologische Vasokonstriktion. Außerdem hat es antiinflammatorische Eigenschaften, denn es führt zu einem Shift von proinflammatorischer zu antiinflammatorischer Zytokinproduktion (De Perrot et al. 2001). Auch ein protektiver Effekt auf Epithelzellen, hier u.a. die surfactantproduzierenden Alveolarepithelzellen Typ II und die Integrität des extrazellulären Surfactant, sind beschrieben worden (Rose et al. 1999, Ware et al. 1999, Fehrenbach 2001, Rooney 2001). Obwohl die genauen Wirkmechanismen noch nicht in allen Einzelheiten bekannt sind, scheinen neben apoptosehemmenden und membranstabilisierenden Effekten auch die verminderte Produktion von Sauerstoffradikalen sowie eine Radikalfängerwirkung des Prostazyklins beteiligt zu sein (Novick et al. 1991b, Takeuchi et al. 1992). PGE₂ hat ähnliche Effekte. Als Adjuvans zu EC und anderen intrazellulären Perfusionslösungen wird es schon seit längerer Zeit verwendet, weil es die durch Hypoxie und die hohe Kaliumkonzentration verursachte Vasokonstriktion antagonisiert (Jurmann et al. 1987). Prostazyklin kann wiederum zur Spendervorbehandlung und zur Behandlung des Empfängers genutzt werden. Ein wesentlicher Nachteil der intravenösen Administration ist die systemische Vasodilatation und der zum Teil schon vor Erreichen der Lunge einsetzende Konzentrationsabfall aufgrund der kurzen Halbwertszeit. Das erfordert zum einen die Verwendung größerer Mengen bis hin zur kontinuierlichen Gabe, zum anderen ist der Abfall des systemischen Blutdruckes nicht immer komplikationsfrei. Im Spender kann es durch die ohnehin aufgrund des Hirntods verursachte Kreislaufinstabilität zur Minderperfusion einzelner Organe kommen, die somit eine Funktionseinschränkung erfahren können. Bei der Behandlung des Empfängers ist diese Komplikation ebenfalls unerwünscht. Deshalb wird seit einiger Zeit eine inhalative Verabreichung der Substanz bei verschiedenen Krankheitsbildern, wie z.B. pulmonaler Hypertonie und ARDS mit Erfolg angewandt (Olschewski et al. 1996, Opitz et al. 2003). Hierbei gelangt das

vernebelte Prostazyklin mit dem Luftstrom in die Alveolen, wo sich ein bestimmtes Reservoir aufbauen kann. Von hier aus diffundiert es nach und nach in die Blutbahn und führt zu einer entsprechenden Senkung des pulmonalvaskulären Widerstandes und des pulmonalen Druckes, ohne wesentliche systemische Effekte auszuüben (Takeuchi et al. 1992, Olschewski et al. 1996). Durch die Verwendung des Prostazyklin-Analogons Iloprost, das biphasisch wirkt mit einer HWZ von 3 bzw. 30 min, kann eine weitere Substanzeinsparung durch längere Wirkdauer erreicht werden (Wittwer et al. 2001b). Auch in der Lungentransplantation wurden erste Versuche mit der Inhalation von Iloprost oder anderen Prostazyklin-Analoga durchgeführt. Hierbei wurden nach experimenteller Verursachung eines I/R-Schadens durch Verneblung von Iloprost gute Ergebnisse bezüglich der Reagibilität der Gefäße, der mikrovaskulären Integrität und des Gasaustausches erzielt (Löckinger et al. 2001, Schütte et al. 2001). Auch die Behandlung des Empfängers bei beginnender pulmonaler Hypertonie durch den I/R-Schaden brachte gute Ergebnisse (Fiser et al. 2001b). Die wichtigsten Wirkungen von aerosolisiertem Iloprost sind in Abb.3 zusammengefasst.

Die Wirkung des second messengers cAMP kann durch die zusätzliche Gabe von selektiven Phosphodiesterasehemmstoffen (PDE III und IV Inhibitoren, wie Rolipram, Motapizone) weiter verlängert werden (Schermuly et al. 2000, Schermuly et al. 2001).

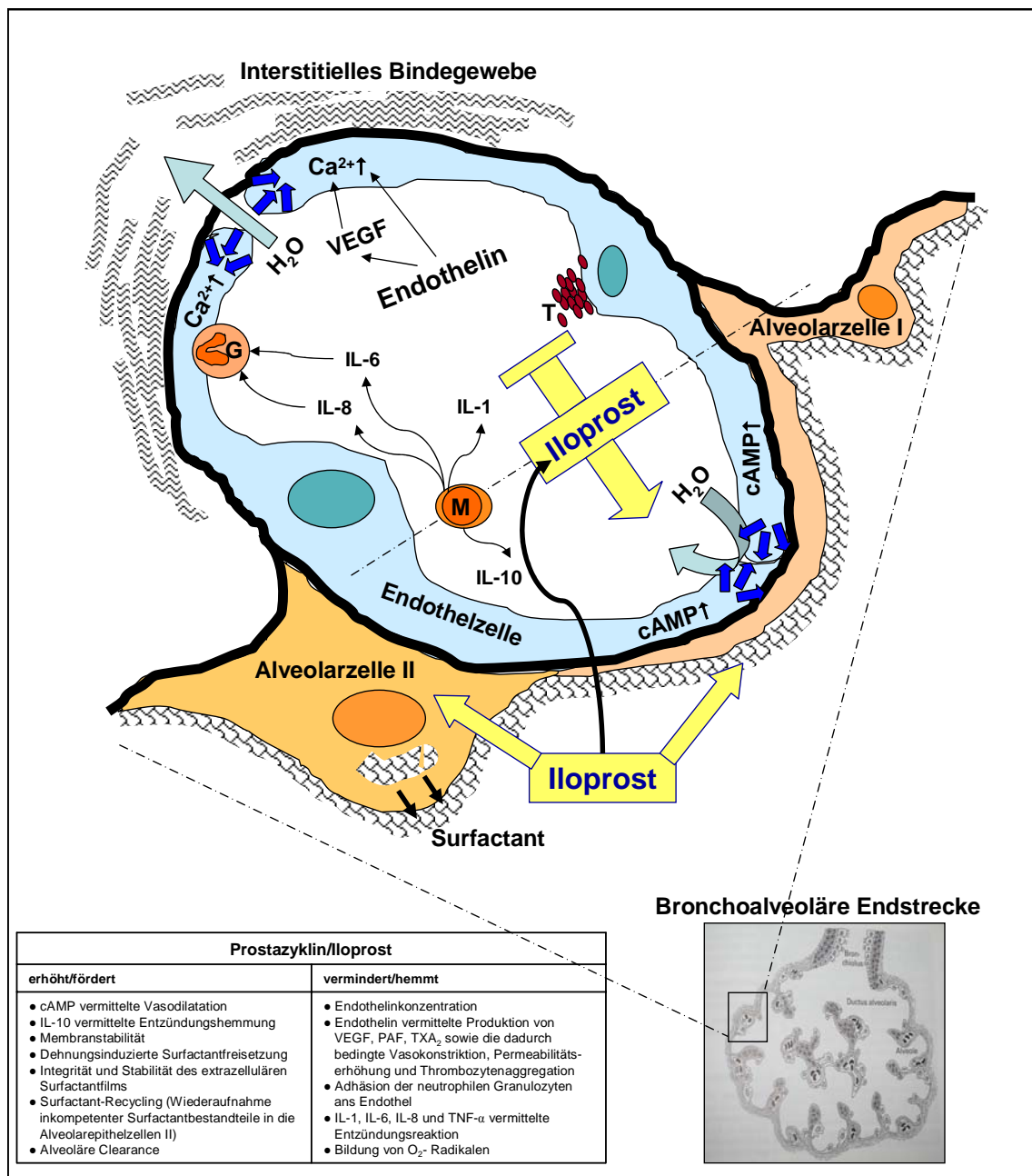


Abb.3: Darstellung der Wirkungen von inhalativ appliziertem Iloprost. Mit dem Atemstrom gelangt es in die bronchoalveoläre Endstrecke, wo es sich als Reservoir ablagert. Von dort diffundiert es in die angrenzenden kleinen Gefäße und entfaltet seine Wirkungen in den Alveolen und Gefäßen. Zeichenerklärung: \uparrow fördert, \downarrow hemmt, mit G bezeichnete Zelle: neutrophiler Granulozyt, mit M bezeichnete Zelle: Monozyt, mit T bezeichnete Struktur: Thrombozytenaggregat. Schematische Darstellung der bronchoalveolären Endstrecke (kleines Bild) aus (Halbhuber 1998).

1.4.1.3 Stickstoffmonoxid

Einen weiteren potenten Vasodilatator und Hemmer der Thrombozytenaggregation stellt das Stickstoffmonoxid (NO) dar. Dieser unter anderem von Endothelzellen produzierte Botenstoff entsteht durch die Einwirkung einer NO-Synthetase (NOS) aus L-Arginin unter Bildung von L-Citrullin. NO diffundiert durch die Zellmembran und aktiviert eine lösliche Guanylatzyklase in den glatten Gefäßmuskelzellen, die daraufhin aus GTP cGMP synthetisiert. Während der Ischämie- und Reperfusionsphase nimmt die Konzentration von NO rapide ab, obwohl die Aktivität der NOS erhöht ist. Dies ist zum einen durch den massiven Verbrauch durch Sauerstoffradikale und zum anderen durch Expression von Inhibitoren der NOS während der Hypoxie zu erklären (Pinsky et al. 1994, Liu et al. 2000). Es gab verschiedene Versuche, den Mangel dieses potenten Vasodilatators durch Zugabe von exogenen NO-Donatoren oder L-Arginin wieder auszugleichen (Vainikka et al. 2001). Ein gravierender Nachteil dieser Behandlung liegt darin begründet, dass NO mit dem Superoxidanion unter Bildung des sehr kurzlebigen Peroxynitrit reagiert, welches schon nach kurzer Ischämiezeit zur Freisetzung von ET-1, zur Schädigung von Alveolarepithelzellen Typ II und zur Zerstörung von Surfactant führt (Eppinger et al. 1995a, Fehrenbach et al. 2001). Dies wiederum äußert sich in einer Transplantatdysfunktion. Deshalb bevorzugten einige Gruppen die Gabe des Effektormoleküls cGMP in Form des stabileren 8-Br-cGMP (Sander et al. 2000). Auch eine inhalative NO-Applikation erbrachte gute Ergebnisse. Hierbei kommt es ähnlich der Iloprost-Applikation zu einem verbesserten Ventilations-/Perfusionsverhältnis und zur Senkung des pulmonalen Widerstandes ohne Beeinträchtigung des systemischen Kreislaufs (Löckinger et al. 2001).

1.4.1.4 Surfactant

Für die Funktion der Lunge ist ein intakter Surfactantfilm essentiell. Surfactant subsummiert ein Gemisch verschiedener Lipide wie Phosphatidylcholin, Phosphatidylglycerol u.a. sowie vier Proteinen. Hierbei stellen die Surfactant Proteine A (SP-A) und SP-D hydrophile, und die Proteine SP-B sowie SP-C hydrophobe Bestandteile dar. Diese Proteine sind wichtig für die gleichmäßige Ausbreitung der Phospholipide zu einem die Alveolen auskleidenden Phospholipid-Film. SP-A ist außerdem an der Wiederaufnahme gealterten Surfactants in die Zellen beteiligt. Alveolarepithelzellen Typ II sind die Produzenten der einzelnen Bestandteile. Ein Teil

bleibt in intrazellulären Vesikeln gespeichert, ein Teil wird sezerniert. Für die Funktion des Surfactant ist von Bedeutung, dass die einzelnen Bestandteile zwischen dem intraalveolären Raum und den Pneumozyten Typ II zirkulieren können (Novick et al. 1991a, Fehrenbach 2001). Durch eine Schädigung dieser Zellen und durch eine direkte Zerstörung des Surfactantfilms tritt während der Ischämie und Reperfusion eine Dysfunktion desselben ein, wodurch auch die Lunge in ihrer Funktion stark eingeschränkt wird, was klinisch in einem Abfall der dynamischen Compliance zum Ausdruck kommt. Durch die Verwendung einer modernen extrazellulären Konservierungslösung kann die Integrität des Surfactant besser erhalten werden als durch Lösungen vom intrazellulären Typ (Ochs et al. 2000). Durch den I/R-Schaden ändert sich die Zusammensetzung des Gemischs. SP-A, tubuläres Myelin, Phosphatidylcholin und Phosphatidylglycerol nehmen in ihrer Konzentration ab, während inaktives Surfactant zunimmt (Ochs et al. 1999). Dies wird durch verschiedene Mechanismen verursacht. Die Schädigung der Typ II Pneumozyten führt zu verminderter Synthese der Surfactantproteine (SP) und zu einem veränderten Recycling. Enzyme wie die Phospholipase A₂ setzen freie Fettsäuren aus den Lipiden frei, Elastase baut SP ab, TNF- α hemmt die Expression der SP-Gene, und hochreaktive Sauerstoffspezies führen zur Lipidperoxidation. Eine exogene Zuführung von Surfactant konnte die Lungenfunktion in experimentellen Versuchen verbessern (Novick et al. 1996). Hierdurch kann die Zusammensetzung des in den Alveolen vorhandenen Gemisches wieder normalisiert werden und eine Lunge, die schon einen I/R-Schaden erlitten hat, kann somit in ihrer Funktion wieder deutlich verbessert werden (Erasmus et al. 1996, Erasmus et al. 1997). Strüber konnte durch eine solche Therapie eine signifikante Verbesserung der Compliance und eine Abnahme des alveolo-arteriellen Sauerstoffgradienten erreichen, so dass alle Patienten innerhalb von 6 Tagen extubiert werden konnten und die 1-Jahresüberlebensrate bei 84 % lag (Strüber et al. 1999). Verschiedene Arbeitsgruppen konnten im Tiermodell durch eine transbronchiale Verabreichung von Surfactant an den Spender vor Perfusion und Entnahme der Lunge eine signifikante Verbesserung der postischämischen Transplantatfunktion erzielen (Hausen et al. 1997b, Koletsis et al. 2003). Novick zeigte, dass die Lungenfunktion durch eine Kombination von Spender- und Empfängerbehandlung noch weiter verbessert werden kann. (Novick et al. 1996). Bisher fehlen allerdings klinische Studien, die eine exogene Surfactanttherapie beim Spender untersuchen (Padilla und Padilla 2004).

1.4.1.5 Sonstige Substanzen

Neben den oben beschriebenen Adjuvantien wurden noch eine Reihe weiterer Substanzen auf ihre Wirkung zur Verbesserung der Konservierungsleistung durch Verminderung des I/R-Schadens getestet, die im Folgenden kurz erwähnt werden sollen.

Einige Gruppen setzen Kalziumantagonisten wie z.B. Verapamil, Diltiazem oder Nifedipin mit Erfolg ein. Durch diese Substanzen soll der pathologische Influx von Kalzium durch die blockierten Kanäle und somit die Folgen einer pathologisch erhöhten intrazellulären Kalziumkonzentration, auf die bei der Besprechung des I/R-Schadens näher eingegangen wurde, reduziert werden (Yokomise et al. 1990, Karcik und Haverich 1992). Auch Chelatbildner können die postoperative Lungenfunktion verbessern. Hierbei ist der Kalzium-Chelatbildner Lactobionat fester Bestandteil einiger Perfusate (UW, Celsior). Zur Verringerung der Sauerstoffradikalbildung durch das während der hypoxischen Bedingungen freigesetzte Eisen kann der Eisen-Chelatbildner Desferroxamin appliziert werden (Qayumi et al. 1992, Zhao et al. 1997). Lazaroide verhindern die Lipidperoxidation durch dieses Metall (Takeyoshi et al. 2001). Um die Auswirkungen der Bildung toxischer Sauerstoffspezies zu reduzieren, sind in einigen Perfusionslösungen standardisiert Antioxidantien, wie red. Gluthathion, Lactobionat und Histidin enthalten. Auch Allopurinol hat durch die kompetitive Inhibition der Xanthinoxidase antioxidative Eigenschaften. Einige Gruppen setzen auch Ascorbinsäure (Vitamin C), α -Tocopherol (Vitamin E) und andere Vitamine aufgrund ihrer Eigenschaft als Radikalfänger ein. Die Wirkung potenter Vasokonstriktoren wie des ET-1, das in der Lunge seine größte Dichte an Rezeptoren (hier vor allem Endothelinrezeptor A (ET_A)) vorfindet, kann durch Antagonisten an diesem Rezeptor erfolgreich reduziert werden (Mizutani et al. 1998, Shennib et al. 1998, Stammberger et al. 1999). Die Funktion von PAF, welches Leukozyten und Thrombozyten aktiviert sowie die Freisetzung von Zytokinen und die Expression von Adhäsionsmolekülen fördert, kann durch die Verabreichung von Antagonisten gegen seinen Rezeptor reduziert werden (Miotla et al. 1998, Nagase et al. 1999b, Nagase et al. 1999a, Wittwer et al. 2001a), ebenso wie durch eine Förderung seiner Metabolisierung durch die Zugabe einer spezifischen Azetylhydrolase zur Konservierungslösung (Kim et al. 2000a). Da der Entzündungsreaktion mit Aktivierung von Leukozyten, deren Adhäsion und Migration wie einer vermehrten Freisetzung proinflammatorischer Zytokine eine entscheidende Bedeutung im Rahmen des I/R-Schadens zukommt, gibt es ebenfalls

Strategien, diese abzuschwächen. Zum einen wären monoklonale Antikörper gegen Zytokine (z.B. TNF- α , IL-8) zu nennen (Sekido et al. 1993). Weiterhin können Adhäsionsmoleküle auf Endothel und Leukozyten durch die Verabreichung löslicher Formen ihrer Liganden, wie Analoga des Sialyl-Lewis-X-Antigens, blockiert werden (Steinberg et al. 1994, Stammberger et al. 2000a). In einigen Studien wird versucht, die Komplementaktivierung, von der eine Zelllyse sowie eine starke chemotaktische Wirkung auf neutrophile Granulozyten ausgeht, durch die Applikation von löslichem CR-1 zu minimieren (Pierre et al. 1998). Weitere aussichtsreiche Verfahren werden zurzeit intensiv erforscht. Hier ist z.B. die Gentherapie zu nennen, bei der Plasmide mit der DNA von Enzymen wie Superoxiddismutase, Katalase und NO-Synthetase oder von antiinflammatorischen Zytokinen wie IL-10 dem Spender zur Verbesserung der Lungenfunktion verabreicht werden (Itano et al. 2000, Fischer et al. 2001b). Viele dieser genannten adjuvanten Behandlungen zur Reduktion des I/R-Schadens sind tierexperimentell gut erforscht, vereinzelt werden sie auch schon klinisch eingesetzt. Allerdings müssen noch große multizentrische Studien folgen, um die Wirkung der einzelnen Substanzen oder ihrer möglichen Kombination zur Reduktion des I/R-Schadens zu evaluieren.

1.5 Ziele der Arbeit

Eine erfolgreiche Lungentransplantation ist nur möglich, wenn das zu transplantierende Organ nach Entnahme und Lagerung strukturell und funktionell intakt ist. Dies soll durch eine adäquate Konservierung erreicht werden. Zurzeit liegen die klinisch möglichen maximalen Ischämiezeiten bei 6-8 Stunden unter Verwendung der in vielen Zentren noch gebräuchlichen Euro-Collins®-Lösung. Viele tierexperimentelle und auch einige klinische Studien haben bei verlängerten Ischämiezeiten eine deutliche Überlegenheit moderner extrazellulärer Perfusate, wie z.B. Perfadex®, gezeigt. Dabei konnte, wie oben erwähnt, mit idealen Spendern klinisch bis zu 12 Stunden kalte Ischämie mit gutem Erfolg toleriert werden (De Perrot et al. 2003). In Tierexperimenten wurden auch nach 24 Stunden noch gute Resultate erzielt (Steen et al. 1994).

Neben den eigentlichen Konservierungslösungen werden in verschiedenen Studien zusätzlich medikamentöse Strategien zur weiteren Verbesserung der Organintegrität angewandt. Dazu gehört der Einsatz von Prostazyklin. Diese Substanz wird seit langem zur Vasodilatation bei Verwendung von EC dem Perfusat zugegeben, um die vasokonstriktiven Effekte der hohen Kaliumkonzentration und der Hypothermie zu eliminieren (Jurmann et al. 1987). Neuerdings wird die inhalative Verabreichung von Prostazyklin oder seines langlebigen Analogons Iloprost zur Reduktion des I/R-Schadens verwendet (Löckinger et al. 2001, Schütte et al. 2001). Hierdurch ist zum einen eine Medikamenteneinsparung zu erreichen, weil durch eine Depotbildung in der Lunge die Wirkung länger anhält, auf die pulmonale Strombahn beschränkt bleibt und der Wirkstoff langsamer abgebaut wird. Außerdem besteht die Möglichkeit, Spender und Empfänger zu behandeln und die Verabreichung ohne großen Aufwand zu wiederholen. Dieser Ansatz hat sich auch schon bei der Behandlung der pulmonalen Hypertonie bewährt (Olschewski et al. 1996, Opitz et al. 2003).

In den Versuchen dieser Dissertation sollen nun die Wirkungen von Perfadex® und der innovativen inhalativen Gabe von Iloprost vor Konservierungsbeginn erstmals miteinander kombiniert werden.

Die Fragestellungen dieser Arbeit lassen sich somit wie folgt präzisieren:

1. Wie gut ist die Funktion der Lunge nach antegrader Konservierung mit Perfadex[®] (Perfadex[®], Fa. Vitrolife Göteborg, Schweden) bei einer kalten Ischämiezeit von 27 Stunden im Vergleich zu einer ebenso präparierten, aber nicht konservierten und nicht transplantierten Sham-Vergleichs-Gruppe?
2. Kann durch die inhalative Verabreichung von 100 µg Iloprost (Ilomedin[®], Fa. Schering, Deutschland) vor Konservierung mit Perfadex[®] die postischämische Lungenfunktion weiter optimiert werden?

2 Material und Methodik

2.1 Tierschutzgenehmigung

Die für die Erstellung dieser Dissertation notwendigen Tierversuche wurden nach §8 des Tierschutzgesetzes (TSchG) genehmigt. Alle an den Versuchen beteiligten Personen wurden über den Umgang mit den Versuchstieren aufgeklärt und erhielten die dafür notwendige Genehmigung. Im Sinne dieses Gesetzes wurde die Gruppengröße mit jeweils 5 Tieren so gering wie für eine sinnvolle statistische Auswertung möglich gewählt.

2.2 Großtierexperimentelles Modell

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden im in-vivo Schweinemodell erarbeitet. Bei den Versuchstieren handelte es sich um weibliche Hausschweine einer deutschen Landrasse mit einem Gewicht von ca. 30 kg, die von der Firma Charles River (Sulzfeld, Deutschland) bezogen wurden. Diese Tiere wurden nach den landwirtschaftlichen Zuchttrichtlinien und nach den international anerkannten Empfehlungen der FELASA für Versuchstiere in der biomedizinischen Forschung gesundheitlich kontrollierten Zucht (FELASA recommendations for the health monitoring of breeding colonies and experimental units of cats, dogs and pigs. 1998. Laboratory Animals 32, 1-17) gehalten. Unter tierärztlicher Aufsicht im Institut für Versuchstierkunde der Friedrich-Schiller Universität Jena erfolgte der Umgang mit den Versuchstieren nach den Empfehlungen der National Society for Medical Research („Principals of Laboratory Animal Care“) und den Richtlinien der National Academy of Science („Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, NIH publication No. 86-23, revidiert 1985).

2.3 Versuchsgruppen

Für die Beantwortung der Fragestellung dieser Arbeit wurden die Versuchstiere randomisiert folgenden Gruppen zugeteilt, wobei jede außer der Sham-Kontroll-Gruppe, bei der lediglich 5 Tiere benutzt wurden, 5 Spender- und 5 Empfängertiere umfasste. Das Gewicht der Empfänger wurde tendenziell etwas höher gewählt, um ein wesentliches pulmonales Größenmismatch auszuschließen.

1. Sham-Kontrollgruppe: lediglich operative Präparation der pulmonalen Strukturen wie bei der Empfängeroperation der beiden Versuchsgruppen, jedoch ohne Konservierung, Ischämie und Transplantation (Sham)
2. Antegrade Perfadex[®]-Konservierung mit einer kalten Ischämiezeit von 27 Stunden (PER)
3. Antegrade Perfadex[®]-Konservierung mit einer kalten Ischämiezeit von 27 Stunden mit zusätzlicher Verneblung von 100µg Iloprost über 30 min vor Konservierung und Organentnahme (PER+Ilo)

2.4 Operation

2.4.1 Narkose

Die Einleitung und Aufrechterhaltung der Narkose erfolgte durch einen Tierarzt. Zur Immobilisierung des Tieres erfolgte die Injektion von 20 mg/kg KG Ketamin (Ketamin[®] 10%, Fa. Altarost, Deutschland) und 150 IE Hylase (Hylase-Dessau[®], PharmaDessau, Deutschland) intramuskulär in den Ohrgrund. Die Schweine wurden mittels 0,04 mg/kg KG Atropin (Atropinsulfat Braun[®] 0,5 mg, Fa. Braun Melsungen, Deutschland) ebenfalls intramuskulär in den Oberschenkel prämediziert. Durch einen peripher venösen Zugang in der linken V. auricularis caudalis folgte die Kurzzeit-Injektionsnarkose durch 2-4 mg/kg KG Propofol (Disoprivan[®] 2% Emulsion, Astra Zeneca, Deutschland). Nachdem das Tier sediert war, wurde es orotracheal intubiert und mit einem Ambubeutel manuell beatmet. Nach Transport in den Operationssaal erfolgte die Rückenlagerung mit folgenden standardisierten Beatmungsparametern: druckkontrollierte Beatmung, Beatmungsdruck 20 mmHg, PEEP 8 mmHg, Atemfrequenz 30/min, Inspirations-/Expirationszeit=1:1, F_IO₂=0,5. Die Narkose wurde durch eine intravenöse Dauerinfusion mit 0,2-0,4 µg/kg KG/min Fentanyl (Fentanyl Janssen[®], Deutschland), 16-20 µg/kg KG/min Midazolam (Midazolam ratiopharm[®] 15 mg/3ml, Deutschland) und 6-10 µg/kg KG/min Pancuronium (Pancuronium duplex curamed[®], Deutschland) aufrechterhalten. Alle Tiere wurden durch Injektion von 400 IE/kg KG Heparin (Liquemin[®] N 25000, Fa. Roche, Deutschland) antikoaguliert und elektrokardiographisch überwacht.

2.4.2 Spenderoperation

In Gruppe 3 (Perfadex[®] antegrad, 27h Ischämie, Iloprost-Verneblung=PER+Ilo) wurde vor Beginn der Operation ein transportabler Ultraschallvernebler (Optineb, Fa. NEBUTECH GmbH, Elsenfeld, Deutschland) in den Inspirationsschenkel integriert. Hiermit erfolgte die Verabreichung von 100µg Iloprost (Ilomedin[®], Fa. Schering, Deutschland) in 15 ml destilliertem Wasser über 30 min bis zum Beginn der Konservierung. Die Operation gestaltete sich in beiden Versuchsgruppen gleich. Zunächst erfolgte die Darstellung der V. jugularis externa dextra und der A. carotis communis dextra. Die Arterie wurde in Seldinger-Technik punktiert und ein Arterienkatheter gelegt, der mit einem Druckabnehmer (Leader Cath 20G 8 cm, Fa. Vygon, Frankreich) verbunden wurde. Die Punktion der Vene geschah ebenfalls in Seldinger-Technik, wobei hier durch eine 8F Gefäßschleuse (perkutanen Kanüleneinführbesteck 8F, Fa. Edwards Lifesciences, Deutschland) der Swan-Ganz-Katheter (Swan-Ganz CCO/VIP 139HF75 7,5F, Fa. Edwards Lifesciences, Deutschland) durch die rechten Herzhöhlen in die A. pulmonalis eingeschwenkt wurde. Die mediane Sternotomie zur Lungenentnahme wurde mit der oszillierenden Säge ausgeführt. Nach Einsetzen eines Thoraxsperrers, folgte die Eröffnung des Perikards und beider Pleuren. Sodann wurden Aorta und Truncus pulmonalis dargestellt sowie die Vv. cavae inferior et superior präpariert. Nach Anlage einer Tabaksbeutelnaht und Inzision wurde eine Perfusionskanüle (Arterielle Kanüle 16F, Fa. Medtronic, Deutschland A. pulmonalis) in den Truncus pulmonalis eingeführt und mit dem Perfusionssystem verbunden. Zur Messung des Perfusionsdruckes erfolgte der Anschluss eines Druckabnehmers (Leader Cath 20G 8 cm, Fa. Vygon, Frankreich) an die Kanüle. Nach Inzision der Vv. cavae superior et inferior wurde das homologe Blut in einem speziellen Blutaufbereitungssystem (Blood Stream Recovery System, Harvest Technologies, USA) unter Zugabe von 5000 IE Heparin/500 ml Vollblut (Liquemin[®] N 25000, Fa. Roche, Deutschland) zu Blutkonserven aufgearbeitet. Um ein Abfließen der Konservierungslösung während der Perfusion zu gewährleisten, erfolgte eine Inzision des linken Vorhofs. Nach Klemmung von Aorta und Truncus pulmonalis erfolgte die Perfusion der Lunge mit 2 l Perfadex[®] (60ml/kg KG; Perfadex[®], Fa. Vitrolife, Göteborg, Schweden) mit einem Perfusionsdruck von 30 cm H₂O. Die Konservierungslösung wurde zuvor mittels 1 Amp. Kalzium (Kalzium Sandoz[®] 10%, Fa. Novartis Consumer Health GmbH, München, Deutschland) und 2 ml Natriumbicarbonat (NaBic[®] 8,4% Infusionslösung, Fa. Braun, Melsungen,

Deutschland) auf einen pH-Wert von 7,4 adjustiert und bei 4°C gelagert. Der resultierende Flushdruck wurde über den mit der Kanüle konnektierten Druckabnehmer quantifiziert. Nach Beendigung der Konservierung erfolgte die Explantation des Herz-Lungen-Pakets unter pulmonaler Inflation mit einem Druck von 20mmHg. Das entnommene Organpaket wurde bei 4°C für 27 Stunden bis zur Vorbereitung für die Lungentransplantation gelagert.

2.4.3 Empfängeroperation

Die Narkose, Lagerung und Präparation der rechten Halsseite des Empfängertieres erfolgte in Analogie zur Spenderoperation. Zusätzlich wurde jedoch die Vena jugularis sinistra präpariert und mit einem Katheter versehen. Für die nun folgende laterale Thorakotomie im 5. ICR wurde das Tier in eine Rechtsseitenlage umgelagert. Nach Durchtrennung der linken Pleuraumschlagsfalte sowie des Ligamentum pulmonale wurde die linke Lunge mobilisiert, die V. hemiazygos ligiert und die linke und rechte A. pulmonalis sowie beide Hauptbronchien dargestellt. Desweiteren wurden die linken Lungenvenen angeschlungen, das Perikard eröffnet und der linke Vorhof mit einem Messkatheter zur Ableitung des linksatrialen Druckes (LAP1251, 3,6 FR, Jostra Medizintechnik, Deutschland) versehen. Die Basisparameter des Empfängertieres wurden nun gemessen und protokolliert. Danach wurden dem Tier 250 mg Methylprednisolon (Urbason[®], Fa. Hoechst, Deutschland) appliziert. Nun erfolgte die Präparation des linken Lungenflügels aus dem Herz-Lungen-Block des Spenders, wobei ein Teil des linken Vorhofs als Vorhofcuff zur erleichterten Anastomose der Lungenvenen belassen wurde. Die linke Lunge des Empfängers wurde anschließend nach Klemmung der A. pulmonalis sinistra, Ligatur der Vv. pulmonales sinistrae und Absetzen des linken Hauptbronchus entfernt. Die Implantation begann mit der Bronchusanastomose, die durch eine doppeltarmierte 4-0 Prolene[®]-Naht realisiert wurde. Danach erfolgte die Pulmonalarterienanastomose durch eine ebenfalls doppeltarmierte fortlaufende 6-0 Prolene[®]-Naht. Nach Ausklemmen des linken Vorhofs wurde unter Kontrolle der Hämodynamik dieser inzidiert und mittels fortlaufender 5-0 Prolene[®]-Naht mit dem Vorhofcuff der Spenderlunge anastomosiert. Die Entlüftung des pulmonalen Gefäßsystems erfolgte anschließend retrograd durch Entfernung der Vorhofklemme. Schließlich wurde auch der antegrade Fluss durch die linke Pulmonalarterie sowie die Ventilation durch den linken Hauptbronchus freigegeben. Hierbei wurden ein PEEP von 10 mmHg, ein F_iO₂ von 1,0 sowie ein maximaler

Beatmungsdruck von 35 mmHg eingestellt. Die Hämodynamik wurde mittels eines Adrenalin-Perfusors (Suprarenin® 1:1000, Fa. Hoechst, Deutschland, Konzentration: 1mg/50 ml) unterstützt. Nach Ausklemmung der kontralateralen Pulmonalarterie und des Hauptbronchus war das Empfängertier somit in der sechsstündigen Reperusionsphase ausschließlich auf die transplantierte linke Lunge angewiesen.

Die Operation der Tiere der Sham-Gruppe gestaltete sich wie die der Empfängertiere der anderen beiden Gruppen, jedoch erfolgte weder die Pneumektomie links noch die Transplantation. Vielmehr wurden direkt nach Darstellung aller genannten Strukturen die rechte Lunge geklemmt und die Kontrolltiere ebenfalls 6 Stunden nachbeobachtet.

2.5 Messwerte und Messzeitraum

Sowohl beim Spender als auch beim Empfänger wurden vor Explantation des Herz-Lungen-Blocks bzw. des linken Lungenflügels einmalige Basisparameter erhoben. Hierzu zählen Gewicht, Temperatur, Herzfrequenz (HF), systemischer (AP) und pulmonaler Blutdruck (PAP), zentralvenöser Druck (ZVD), pulmonalkapillärer Verschlussdruck (PCWP) beim Spender bzw. linksatrialer Druck (LAP) beim Empfänger, systemischer (SVR) und pulmonaler Widerstand (PVR), Atemfrequenz (AF), Atemminutenvolumen (AMV), Tidalvolumen (TV), pulmonalinspiratorischer Spitzendruck (PIP), positiv-endexpiratorischer Druck (PEEP) und Compliance (C). Außerdem wurden den Tieren arterielle und gemischtvenöse Blutproben für die Blutgasanalyse entnommen. Die invasiv bestimmten Druckwerte wurden auf einem Druckmonitor (Virida 24 CT, Fa. Hewlett-Packard, Deutschland) aufgezeichnet. Die Messung des HZV und der davon abgeleiteten Werte wurde durch einen HZV-Monitor (Vigilance, Fa. Edwards Lifesciences, Deutschland) vorgenommen. Für die Beatmung und die Messung der Atemparameter wurde ein Beatmungsgerät (Evita 2 dura, Fa. Dräger Medical, Deutschland) eingesetzt. Zur Bestimmung der Blutgase wurde ein Blutgasanalysegerät (ABL 715-B, Fa. Radiometer, Deutschland) verwendet. Ebenfalls einmalig dokumentiert wurden die Flushzeit und der Flushdruck während der Konservierung sowie der Beginn der kalten Ischämie und der Beginn der Reperfusion zur Bestimmung der totalen Ischämiezeit.

Neben diesen Basiswerten wurden nach Beginn der Reperfusion, nach Klemmung der rechten Lunge und in den folgenden 6 Stunden der Reperfusion in regelmäßigen Abständen von 30 min die oben genannten Messungen am Empfängertier wiederholt.

Am Ende des Messzeitraums erfolgte die Entnahme eines ca. 8 cm³ großen Gewebestückes aus der Lingula, dass zur Bestimmung des Feucht/Trocken-Quotienten (wet/dry-ratio, W/D-Ratio) 48 Stunden in einem Wärmeschränk bei 60°C getrocknet wurde. Vor Einbringen in diesen und nach der Trocknungszeit wurde das Gewicht mit einer Präzisionswaage (S 300, Fa. Sartorius, Göttingen, Deutschland) gemessen.

Weitere Proben wurden aus Ober- und Unterlappen entnommen und nach Aufteilung in 4 Stücke a 0,5 x 1 x 1 cm in 3% Formalin fixiert. Nach Färbung mit Hämatoxylin/Eosin und Naphtol-AS-D-Chloracetat-Esterase sowie folgender Paraffineinbettung erfolgte die histologische Auswertung mit Bestimmung der gemittelten Anzahl polymorphkerniger neutrophiler Granulozyten (PMN) pro Alveolus im Institut für Pathologie der FSU Jena.

2.5.1 Berechnung abgeleiteter Parameter

Der pulmonalvaskuläre Widerstand (PVR) kann aus dem mittleren pulmonalarteriellen Druck (mPAP), dem linksatrialen Druck (LAP) und dem Herzzeitvolumen (HZV) mit folgender Formel berechnet werden:

$$PVR = \frac{(mPAP - LAP) \times 80}{HZV} \quad \left(\text{Einheit: } \frac{\text{dyn} \times \text{s}}{\text{cm}^5} \right)$$

Die Berechnung des systemischen Gefäßwiderstandes erfolgt analog dem PVR durch Verwendung des mittleren arteriellen Druckes (mAP), des zentralvenösen Druckes (ZVD) und des HZV gemäß folgender Formel:

$$SVR = \frac{(mAP - ZVD) \times 80}{HZV} \quad \left(\text{Einheit: } \frac{\text{dyn} \times \text{s}}{\text{cm}^5} \right)$$

Die dynamische Compliance (C), der Parameter für die elastische Dehnbarkeit der Lunge, kann mittels Tidalvolumen (TV), inspiratorischem Spitzendruck (PIP) und endexpiratorischem Druck (PEEP) nach folgender Formel berechnet werden:

$$C = \frac{TV}{(PIP - PEEP)} \quad \left(\text{Einheit: } \frac{\text{ml}}{\text{mbar}} \right)$$

Die Compliance wurde durch das Beatmungsgerät bestimmt und neben den anderen Beatmungsparametern angezeigt.

2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Aufarbeitung der erhobenen Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS (SPSS for Windows, Version 11.0, Birmingham AL, USA) mit freundlicher Unterstützung von Dr. R. Volland, Institut für medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation der FSU Jena (Direktor: Prof. Dr. H. Witte). Die einmalig erhobenen Parameter sowie die Basisparameter wurden mittels der einfaktoriellen ANOVA-Analyse untersucht. Parameter, die während der Nachbeobachtungszeit mehrfach erhoben wurden, sind einer univariaten ANOVA-Analyse mit Messwiederholungen unterzogen worden. Bei signifikant unterschiedlichem Einfluss der Zeit in den Gruppen (Gruppe \times Zeit: $p < 0,05$) erfolgte die Analyse der Parameter zu jedem Messzeitpunkt getrennt mit der einfaktoriellen ANOVA-Analyse. Die hierbei erhaltenen p-Werte wurden mittels α -Adjustierung auf im zeitlichen Verlauf auftretende signifikante Unterschiede überprüft. Als post hoc Test auf lokale Signifikanzen wurde der LSD-Test gewählt, wenn Varianzhomogenität vorlag. Im Falle von heterogenen Varianzen wurde der Tamhane T2-Test verwendet, da dieses Verfahren nicht auf eine Gleichheit der Varianzen angewiesen ist. Die Überprüfung auf Varianzhomogenität wurde mittels des Levene-Tests durchgeführt. Bei allen erhobenen Tests wurde die Signifikanzschranke mit $p=0,05$ gewählt, ein $p<0,001$ galt als hochsignifikant.

3 Ergebnisse

3.1 Tiergewichte

Die Spendertiere wogen im Mittel $30,54 \pm 5,16$ kg, die Empfängertiere $31,77 \pm 6,03$ kg. Hierbei ergaben sich im Vergleich der beiden Gruppen PER und PER+Ilo keine signifikanten gruppenspezifischen Unterschiede. In der Regel wurden die Empfänger tendenziell etwas schwerer gewählt. Die Tiere der Sham-Gruppe wurden sowohl mit den Spendern als auch den Empfängern der anderen beiden Gruppen verglichen, da hier eine Zuordnung zu Spender oder Empfänger nicht möglich war. Hierbei war die Sham-Gruppe im Vergleich mit PER+Ilo signifikant leichter, zur PER ergab sich lediglich bei der Gegenüberstellung der Empfänger ein signifikanter Unterschied. (Tab.3)

Tab.3: Mittlere Spender- und Empfängergewichte (kg).

Gewicht (kg)	PER	PER+Ilo	Sham
Spender	$31,3 \pm 1,86$	$33,8 \pm 3,27$	$26,8 \pm 5,93$
Empfänger	$34,5 \pm 2,26$	$35,6 \pm 4,56$	$26,8 \pm 5,93$

Gewicht	p-Wert Spender	p-Wert Empfänger
PER vs. Sham	0,105	0,02*
PER vs. PER+Ilo	0,349	0,697
Sham vs. PER+Ilo	0,018*	0,009*

Die Gruppen wurden mit dem ANOVA post hoc Test LSD verglichen.

Signifikanzen:

Sham vs. PER: $p=0,02$ (Empfänger)

Sham vs. PER+Ilo: $p=0,018$ (Spender) und $p=0,009$ (Empfänger)

3.2 Hämodynamik

Als Basisparameter für eine ausreichende hämodynamische Stabilität der Tiere wurden das HZV und der PVR verwendet. Im Vergleich der Spendergruppen ergab sich bezüglich dieser Werte kein signifikanter Unterschied. Dasselbe gilt für den PVR der Empfänger, der ebenfalls keine Unterschiede aufwies. Lediglich das HZV der Empfängertiere der PER+Ilo wies einen jeweils signifikant höheren Wert auf als die beiden anderen Gruppen, wobei der Mittelwert des HZV in der Sham-Gruppe am geringsten war. (Tab.4 + 5)

Tab.4: Mittlere Herzzeitvolumina (HZV in l/min) der Spendertiere und mittlere Ausgangswerte des HZV der Empfängertiere.

HZV	PER	PER+Ilo	Sham
Spender	3,36 ± 0,44	3,98 ± 1,39	3,28 ± 1,31
Empfänger	4,32 ± 0,37	6,22 ± 0,79	3,28 ± 1,31

HZV	p-Wert Spender	p-Wert Empfänger
PER vs. Sham	0,913	0,095
PER vs. PER+Ilo	0,402	0,006*
Sham vs. PER+Ilo	0,346	<0,001*

Die Gruppen wurden mit dem ANOVA post hoc Test LSD verglichen.

Signifikanzen: PER vs. PER+Ilo: p=0,006
Sham vs. PER+Ilo: p<0,001

Tab.5: Mittlere pulmonalvaskuläre Widerstände (PVR in dyn*s/cm⁵) der Spendertiere und mittlere Ausgangswerte des PVR der Empfängertiere.

PVR	PER	PER+Ilo	Sham
Spender	217,8 ± 110,78	196,2 ± 92,12	218,8 ± 54,94
Empfänger	261 ± 77,61	210,8 ± 51,28	218,8 ± 54,94

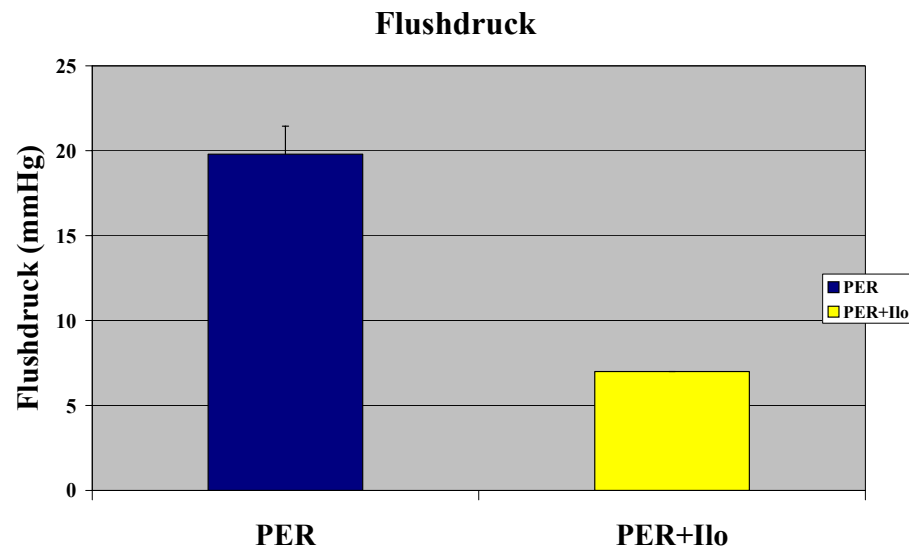
PVR	p-Wert Spender	p-Wert Empfänger
PER vs. Sham	0,986	0,306
PER vs. PER+Ilo	0,746	0,227
Sham vs. PER+Ilo	0,695	0,843

Die Gruppen wurden mit dem ANOVA post hoc Test LSD verglichen.

Signifikanzen: keine

3.3 Flush-Perfusionsdruck

Der resultierende intravasale Druck, mit dem die Perfusionslösung standardisiert aus vorher definierter Höhe mittels Schwerkraft die Lunge durchströmte, war hochsignifikant unterschiedlich zwischen den beiden Gruppen PER und PER+Ilo (p<0,001). Hierbei war der Flush-Perfusionsdruck in der PER+Ilo mit 7,0 mmHg deutlich niedriger als in der PER, wo er 19,8 ± 1,64 mmHg betrug. (Abb.4; Tab.6)

**Abb.4:** Darstellung des Flush-Perfusionsdrucks.**Signifikanzen:** PER vs. PER+Ilo: $p < 0,001$ **Tab.6:** Mittlere Flushzeit (Sekunden), mittlerer Flushdruck (mmHg) und mittlere Ischämiezeit.

	PER	PER+Ilo
Flushzeit (sec.)	567 ± 131,3	431 ± 41,3
Flushdruck (mmHg)	19,8 ± 1,64	7,0 ± 0,0
Ischämiezeit (min)	1622,6 ± 51,73	1639,2 ± 19,99

	p-Wert Flushzeit	p-Wert Flushdruck	p-Wert Ischämiezeit
PER vs. PER+Ilo	0,090	<0,001*	0,532

Die Gruppen wurden mit dem t-Test für zwei unabhängige Stichproben verglichen.

Signifikanzen: PER vs. PER+Ilo: $p < 0,001$

3.4 Flush-Perfusionszeit

Die Zeit, die erforderlich war, um die Lunge mit 2 Liter Konservierungslösung (ca. 60ml/kg KG) zu perfundieren, unterschied sich in beiden Gruppen nicht signifikant, was jedoch auf die hohe Streuung der PER-Gruppe zurückzuführen sein könnte. Tendentiell war die Zeit, die in der PER+Ilo-Gruppe hierfür nötig war, mit $431 \pm 41,3$ Sekunden deutlich kürzer als die der PER-Gruppe mit $567 \pm 131,3$ Sekunden (Abb.5; Tab.6).

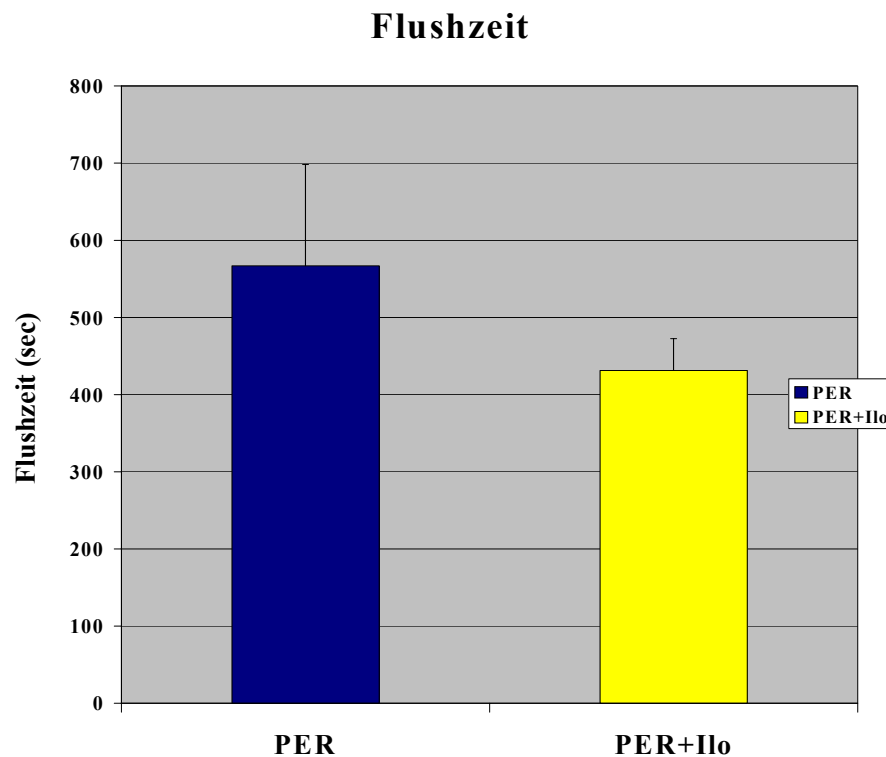


Abb.5: Darstellung der Flush-Perfusionszeit.

Signifikanzen: keine

3.5 Kalte Ischämiezeit

Die kalte Ischämiezeit, d.h. die Zeit von der Entnahme des Herz-Lungen-Blocks bis zur Verbringung der Transplantatlunge in den Empfänger wurde sowohl in der PER- als auch der PER+Ilo-Gruppe mit 27 Stunden gewählt. Zwischen den Gruppen gab es hierbei keine signifikanten Unterschiede (Tab.6).

3.6 Oxygenierungsindex (p_aO_2/F_iO_2)

Bei diesem Parameter zur Beurteilung des relativen arteriellen Sauerstoffpartialdruckes wurden die besten Ergebnisse in der Sham-Gruppe erzielt. Die niedrigsten Werte erreichte die PER-Gruppe, so dass signifikante Unterschiede zwischen Sham und PER zu verzeichnen waren ($p=0,010$). Die PER+Ilo-Gruppe liegt bei mittleren Werten. Es traten weder signifikante Unterschiede zur Sham noch zur PER-Gruppe auf. Die Werte blieben über den gesamten Beobachtungszeitraum relativ stabil. (Tab.7, Abb.6).

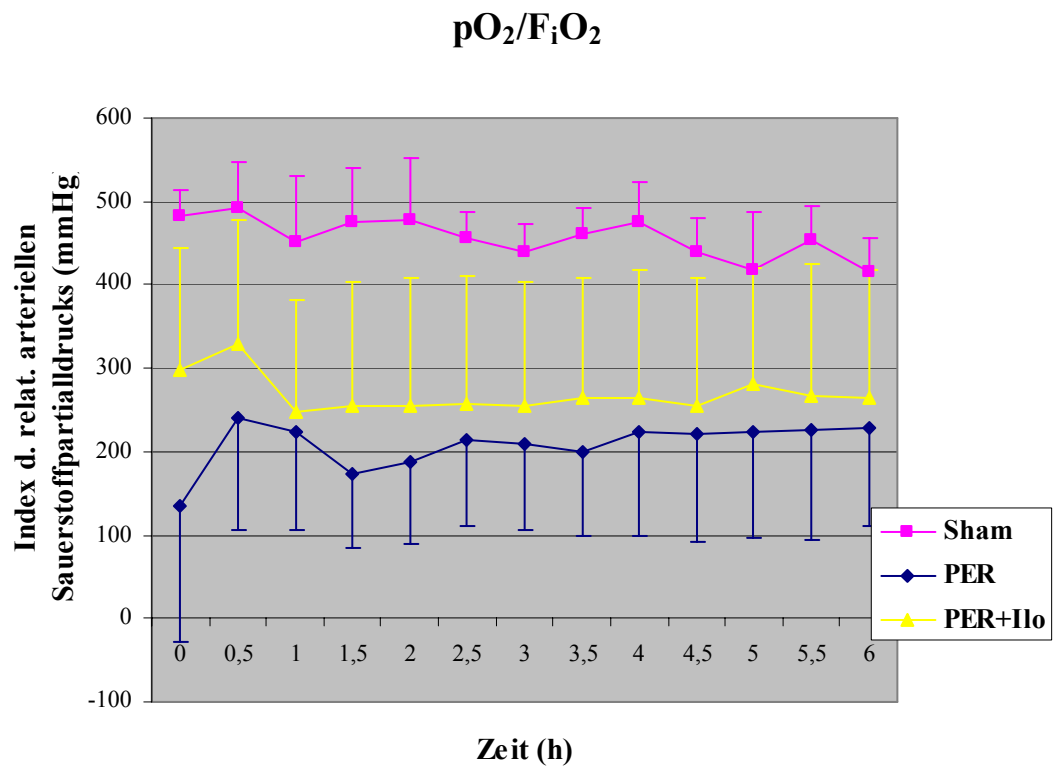
Tab.7: Mittelwerte des Oxygenierungsindex (mmHg).

Zeit	PER	PER+Ilo	Sham
0 h	135,0 ± 162,8	298,0 ± 145,6	482,8 ± 31,2
0,5 h	240,0 ± 133,8	328,6 ± 150,1	328,6 ± 54,6
1 h	224,6 ± 118,2	248,6 ± 133,0	248,6 ± 78,2
1,5 h	173,6 ± 88,8	254,8 ± 150,0	474,4 ± 64,9
2 h	188,9 ± 99,4	254,1 ± 155,0	476,8 ± 75,7
2,5 h	215,0 ± 104,7	256,2 ± 153,6	456,8 ± 30,0
3 h	208,5 ± 102,3	254,2 ± 148,3	440,4 ± 31,7
3,5 h	199,8 ± 100,5	264,9 ± 143,9	462,0 ± 29,4
4 h	223,8 ± 125,1	265,3 ± 151,6	476,0 ± 46,3
4,5 h	220,9 ± 128,7	255,8 ± 153,4	440,0 ± 39,8
5 h	223,9 ± 127,9	281,2 ± 139,0	417,2 ± 70,9
5,5 h	226,4 ± 131,6	267,1 ± 157,4	452,8 ± 41,0
6 h	228,0 ± 116,5	265,2 ± 153,8	416,3 ± 38,9

PO_2/F_iO_2	p-Wert
PER vs. Sham	0,010*
PER vs. PER+Ilo	0,838
Sham vs. PER+Ilo	0,107

Die Gruppen wurden mittels univariater ANOVA-Analyse mit Messwiederholung verglichen. Als post hoc Test wurde der Tamhane T2 Test verwendet.

Signifikanzen: PER vs. Sham: $p=0,010$



mittlerer pO₂/F_iO₂ über 6 h

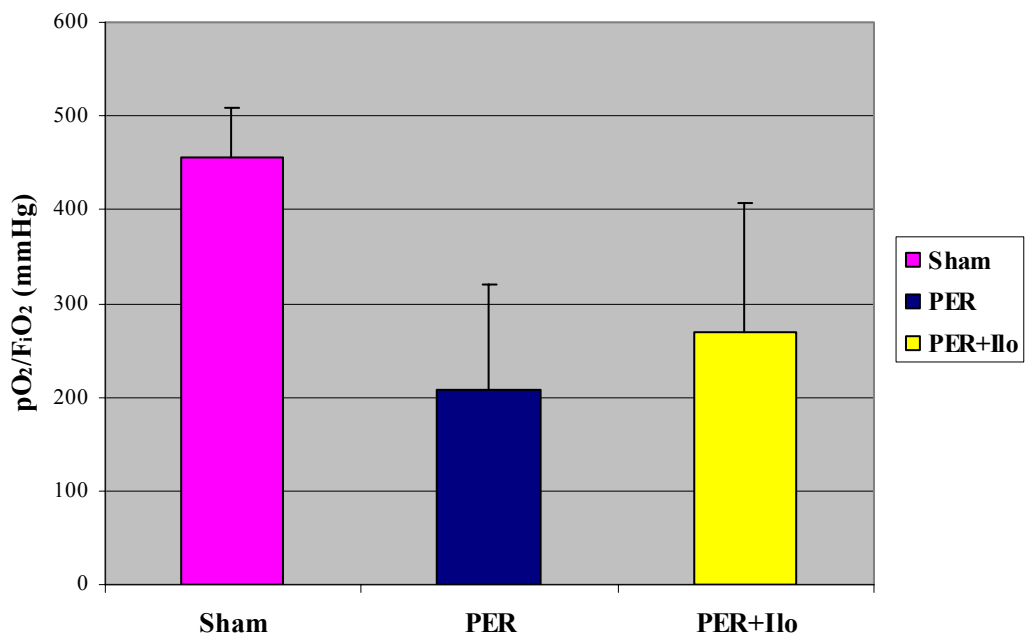


Abb. 6: Darstellung des Verlaufes des Quotienten des arteriellen Sauerstoffpartialdruckes (pO₂/F_iO₂) sowie des jeweiligen Gesamtmittelwertes nach 6 h Beobachtungszeit. Die Gruppen wurden mittels univariater ANOVA-Analyse mit Messwiederholung verglichen. Als post hoc Test wurde der Tamhane T2 Test verwendet.

Signifikanzen: PER vs. Sham: p=0,010.

3.7 Compliance

Die dynamische Compliance als Parameter der Lungendehnbarkeit konnte in der PER+Ilo-Gruppe die besten Ergebnisse erreichen, die sich über die Zeit sogar weiter verbesserten. Auch hier wurde bei der PER-Gruppe das schlechteste Resultat erreicht. Der Unterschied zwischen PER+Ilo und PER erlangte statistische Signifikanz ($p=0,027$), während der Vergleich zwischen Sham und PER+Ilo sowie zwischen Sham und PER keine signifikanten Differenzen ergab (Tab.8, Abb.7).

Tab.8: Mittelwerte der dynamischen Compliance (ml/mbar).

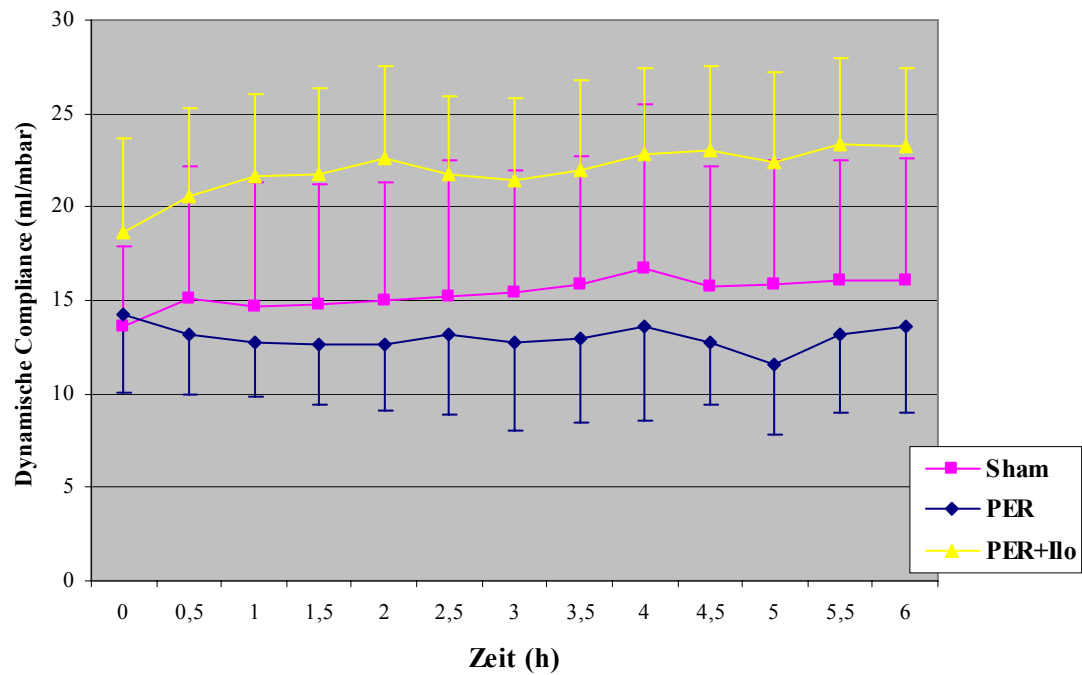
Zeit	PER	PER+Ilo	Sham
0 h	14,2 ± 4,09	18,6 ± 5,13	13,6 ± 4,32
0,5 h	13,2 ± 3,27	20,6 ± 4,67	15,1 ± 7,05
1 h	12,8 ± 2,95	21,6 ± 4,39	14,7 ± 6,59
1,5 h	12,6 ± 3,21	21,8 ± 4,55	14,8 ± 6,39
2 h	12,6 ± 3,51	22,6 ± 4,93	15,1 ± 6,32
2,5 h	13,2 ± 4,32	21,8 ± 4,15	15,2 ± 7,26
3 h	12,8 ± 4,82	21,4 ± 4,45	15,4 ± 6,57
3,5 h	13,0 ± 4,53	22,0 ± 4,80	15,8 ± 6,88
4 h	13,6 ± 5,03	22,8 ± 4,66	16,7 ± 8,82
4,5 h	12,8 ± 3,42	23,0 ± 4,53	15,8 ± 6,37
5 h	11,6 ± 3,78	22,4 ± 4,77	15,9 ± 6,61
5,5 h	13,2 ± 4,15	23,4 ± 4,56	16,1 ± 6,39
6 h	13,6 ± 4,62	23,2 ± 4,21	16,1 ± 6,45

Compliance	p-Wert
PER vs. Sham	0,470
PER vs. PER+Ilo	0,016*
Sham vs. PER+Ilo	0,063

Die Gruppen wurden mittels univariater ANOVA-Analyse mit Messwiederholung verglichen. Als post hoc Test wurde der LSD-Test verwendet.

Signifikanzen: PER vs. PER+Ilo: $p=0,016$

Compliance



mittlere Compliance über 6 h

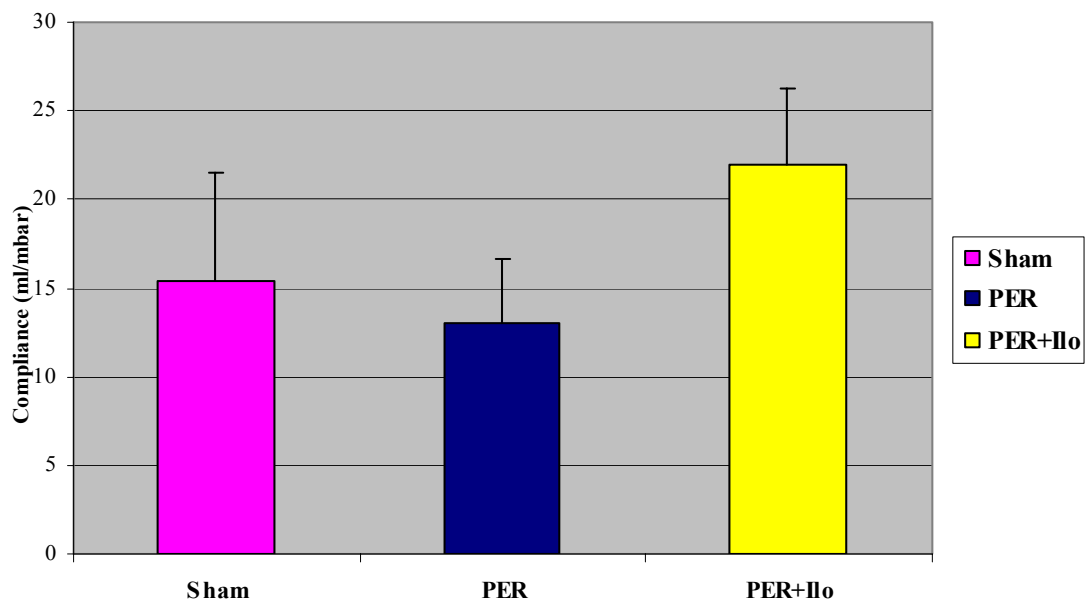


Abb.7: Darstellung des zeitlichen Verlaufes der jeweiligen Compliance sowie des jeweiligen Gesamtmittelwertes nach 6 h Beobachtungszeit. Die Gruppen wurden mittels univariater ANOVA-Analyse mit Messwiederholung verglichen. Als post hoc Test wurde der LSD-Test verwendet.

Signifikanzen: PER vs. PER+Ilo: $p=0,016$.

3.8 Mittlerer pulmonalarterieller Druck (mPAP)

Der mPAP fiel bei allen 3 Gruppen im Verlauf der Nachbeobachtung leicht ab. Er erreichte bei der Sham-Gruppe fast den Normalbereich und war auch in der PER+Ilo-Gruppe nicht wesentlich erhöht. Die PER-Gruppe verzeichnete die höchsten Werte und unterschied sich hochsignifikant von der Sham-Gruppe ($p=0,001$). Auch der Unterschied zwischen PER+Ilo und Sham war signifikant ($p=0,02$). Zwischen PER und PER+Ilo gab es keine signifikanten Differenzen (Tab.10, Abb.8).

Tab.10: Mittelwerte des pulmonalarteriellen Mitteldrucks (mmHg).

Zeit	PER	PER+Ilo	Sham
0 h	53,6 ± 13,09	50,0 ± 7,21	32,4 ± 4,16
0,5 h	49,0 ± 7,28	44,6 ± 8,56	28,8 ± 4,32
1 h	48,0 ± 6,44	40,2 ± 5,63	30,0 ± 4,24
1,5 h	48,4 ± 3,29	38,8 ± 5,97	28,8 ± 4,09
2 h	47,0 ± 4,18	40,0 ± 8,97	27,2 ± 2,68
2,5 h	46,0 ± 3,67	40,6 ± 7,70	24,4 ± 2,88
3 h	44,8 ± 3,11	38,6 ± 7,50	26,8 ± 5,50
3,5 h	44,2 ± 5,54	36,8 ± 6,65	25,2 ± 6,76
4 h	43,6 ± 4,56	36,4 ± 6,02	25,2 ± 9,52
4,5 h	43,8 ± 5,02	36,2 ± 6,53	28,8 ± 7,40
5 h	43,2 ± 5,36	35,2 ± 5,26	24,0 ± 7,58
5,5 h	43,2 ± 5,02	34,0 ± 5,96	25,2 ± 7,43
6 h	42,0 ± 5,10	35,6 ± 5,55	26,0 ± 6,89

mPAP	p-Wert
PER vs. Sham	0,001 ^{**}
PER vs. PER+Ilo	0,218
Sham vs. PER+Ilo	0.020 [*]

Die Gruppen wurden mittels univariater ANOVA-Analyse mit Messwiederholung verglichen. Als post hoc Test wurde der Tamhane T2 Test verwendet.

Signifikanzen: PER vs. Sham: $p=0,001$
Sham vs. PER+Ilo: $p=0,020$

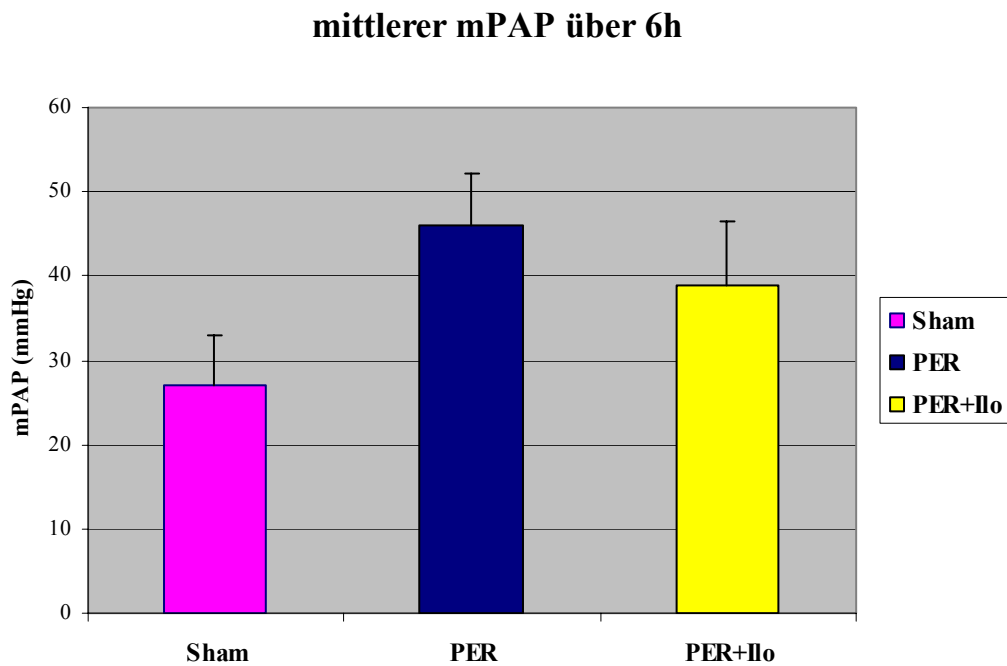
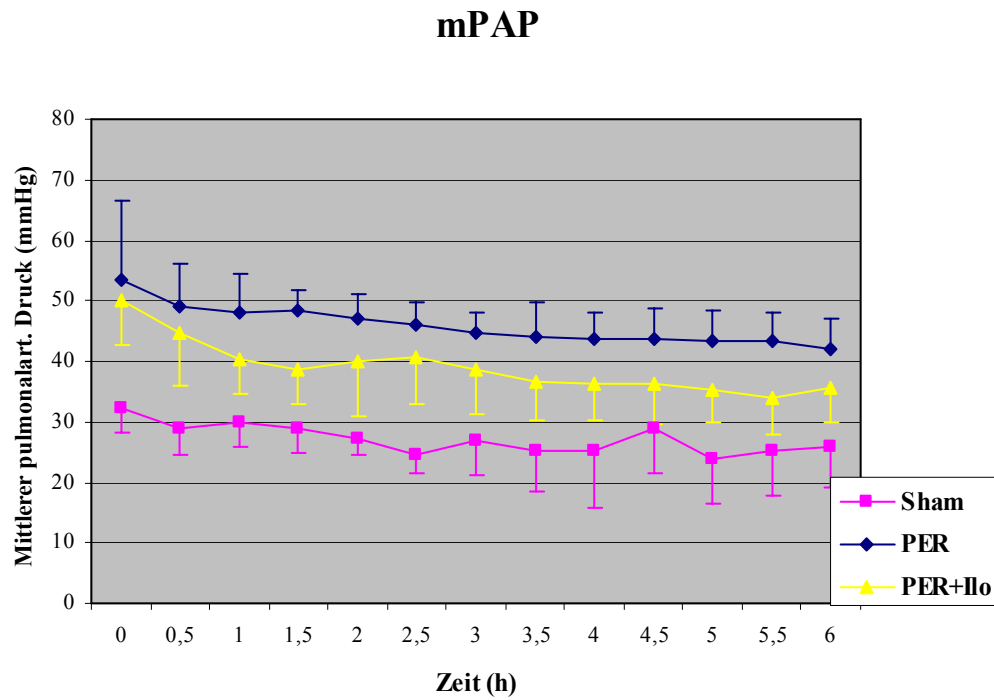


Abb.8: Darstellung des pulmonalarteriellen Mitteldruckes (mPAP) im Verlauf der 6 h Beobachtungszeit und als Mittelwerte über 6 h. Die Gruppen wurden mittels univariater ANOVA-Analyse mit Messwiederholung verglichen. Als post hoc Test wurde der Tamhane T2 Test verwendet.

Signifikanzen: PER vs. Sham: $p=0,001$
 PER+Ilo vs. Sham: $p=0,02$.

3.9 Pulmonalvaskulärer Widerstand (PVR)

Der PVR blieb in der Sham- und der PER+Ilo-Gruppe über die gesamte Zeit weitgehend konstant. In der PER-Gruppe fiel er im Verlauf der Beobachtungszeit um ca. 25%. Trotzdem erreichte diese Gruppe durchgehend die höchsten und somit schlechtesten Resultate. Der PVR der Sham-Gruppe war deutlich niedriger. Die Unterschiede erreichten aber aufgrund der großen Streubreite der PER-Gruppe keine Signifikanzen. Ebenso ist auch die Differenz zwischen PER+Ilo und Sham sowie zwischen PER+Ilo und PER nicht signifikant (Tab.9, Abb.9).

Tab.9: Mittelwerte des pulmonalvaskulären Widerstandes (dyn*s/cm⁵).

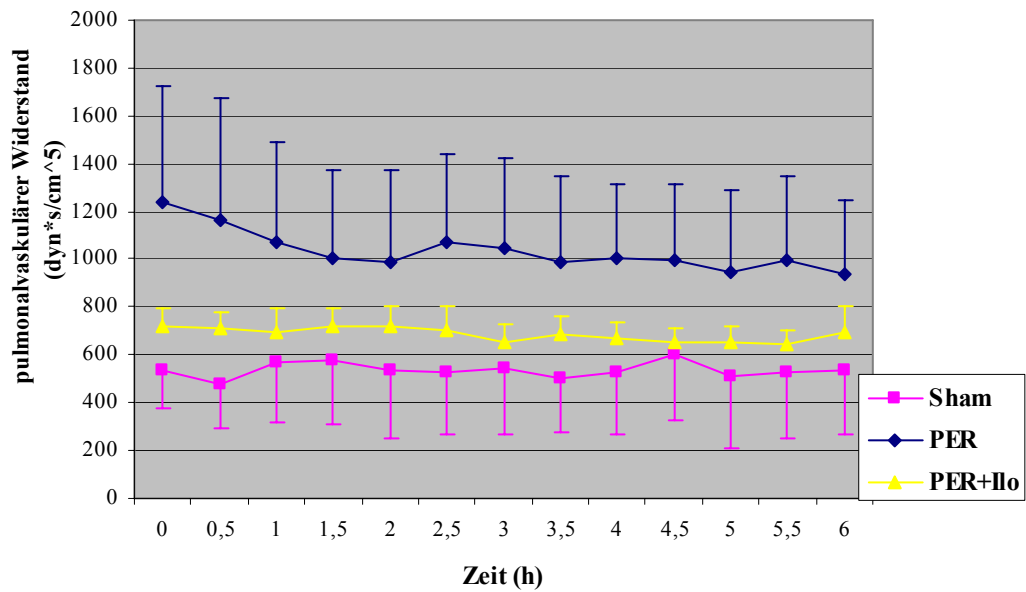
Zeit	PER	PER+Ilo	Sham
0 h	1240 ± 487,6	716 ± 80,2	539 ± 164,0
0,5 h	1165 ± 506,9	708 ± 71,3	479 ± 184,0
1 h	1068 ± 421,1	692 ± 99,6	572 ± 257,9
1,5 h	1007 ± 362,3	716 ± 78,2	574 ± 263,7
2 h	987 ± 381,7	720 ± 81,3	532 ± 280,9
2,5 h	1068 ± 371,6	703 ± 102,1	530 ± 262,9
3 h	1048 ± 371,6	656 ± 68,7	546 ± 277,0
3,5 h	989 ± 356,3	685 ± 76,9	499 ± 221,1
4 h	1006 ± 309,7	672 ± 65,2	525 ± 258,4
4,5 h	997 ± 317,1	652 ± 59,4	602 ± 279,5
5 h	949 ± 339,2	656 ± 64,5	507 ± 295,9
5,5 h	999 ± 348,9	646 ± 57,4	527 ± 276,5
6 h	938 ± 312,3	694 ± 107,2	532 ± 262,0

PVR	p-Wert
PER vs. Sham	0,105
PER vs. PER+Ilo	0,260
Sham vs. PER+Ilo	0,551

Die Gruppen wurden mittels univariater ANOVA-Analyse mit Messwiederholung verglichen. Als post hoc Test wurde der Tamhane T2 Test verwendet.

Signifikanzen: keine

PVR



mittlerer PVR über 6 h

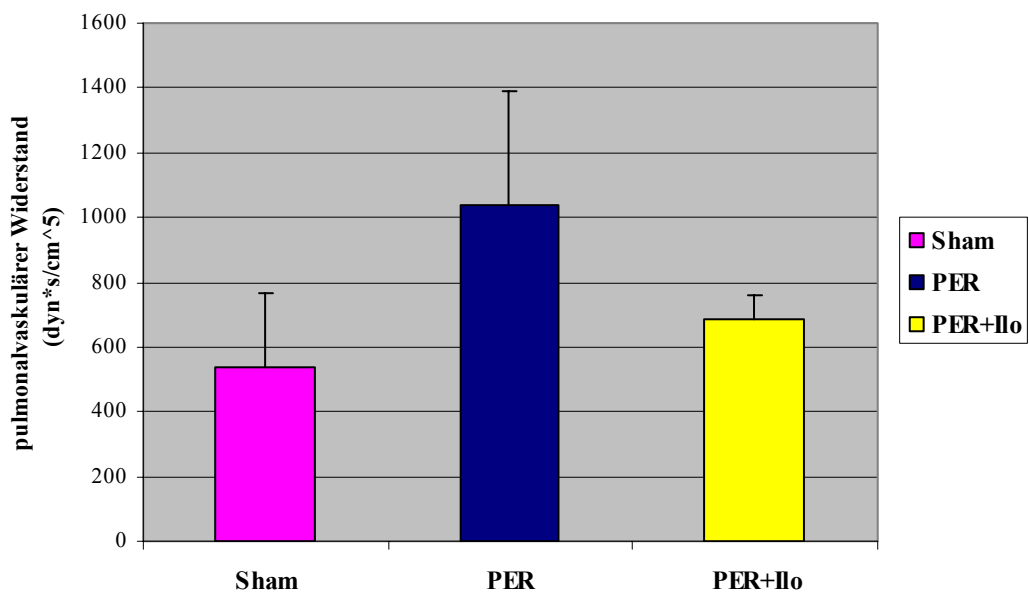


Abb.9: Darstellung des Verlaufes des pulmonalvaskulären Widerstandes (PVR) über 6 h Nachbeobachtungszeit sowie der mittleren PVR über 6 h. Die Gruppen wurden mittels univariater ANOVA-Analyse mit Messwiederholung verglichen. Als post hoc Test wurde der Tamhane T2 Test verwendet.

Signifikanzen: keine

3.10 Wet/Dry-Ratio (W/D-Ratio)

Die entnommenen „feuchten“ Lungenpräparate wogen in der Sham- und der PER-Gruppe ungefähr 6-mal soviel wie im Vergleich zur Wiegung nach 48h Trocknung. Bei der PER+Ilo-Gruppe war es im Schnitt die 5fache Masse. Der Unterschied zwischen PER und PER+Ilo war signifikant. (Tab.11, Abb.10)

Tab.11: Mittelwerte der des Feucht/Trockenquotienten (Wet/Dry-Ratio).

	PER	PER+Ilo	Sham
Wet/Dry-Ratio	6,236 ± 0,965	5,232 ± 0,209	6,020 ± 0,766

Wet/Dry-Ratio	p-Wert
PER vs. Sham	0,646
PER vs. PER+Ilo	0,048*
Sham vs. PER+Ilo	0,110

Die Gruppen wurden mit der einfaktoriellen ANOVA-Analyse verglichen. Als post hoc Test wurde der LSD-Test verwendet.

Signifikanzen: PER vs. PER+Ilo: p=0,048

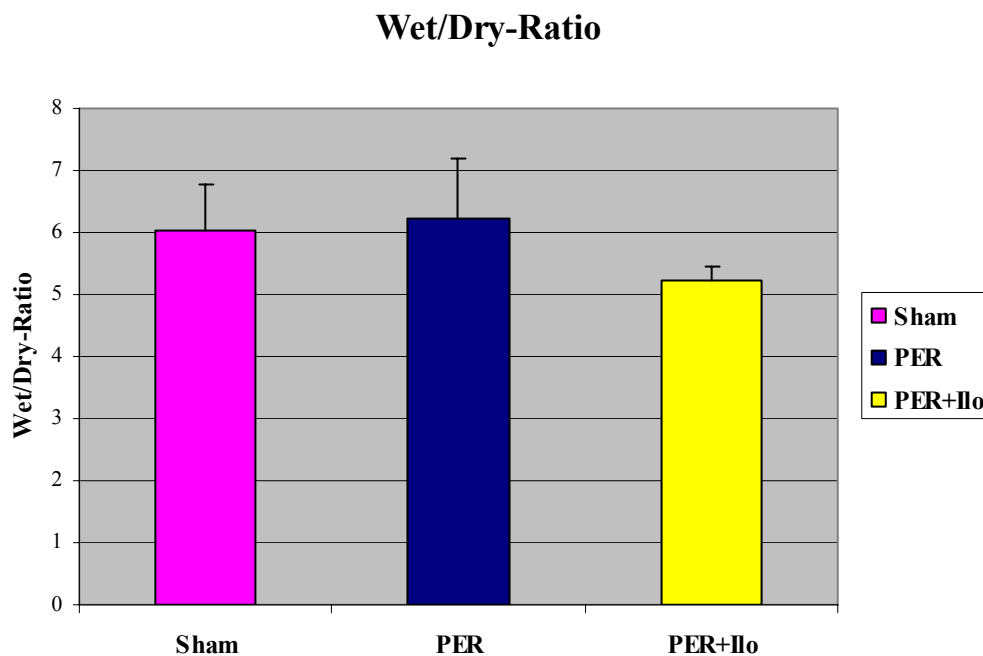


Abb.10: Darstellung des Feucht/Trocken-Quotienten (Wet/Dry-Ratio, W/D-Ratio) als Mittelwerte über 6 h. Die Gruppen wurden mittels einfaktorieller ANOVA-Analyse verglichen. Als post hoc Test wurde der LSD-Test verwendet.

Signifikanzen: PER vs. PER+Ilo: p=0,048

3.11 Alveoläre Zellzahl (PMN/Alveolus)

Die histologische Auswertung der entnommenen Präparate zur Bestimmung der mittleren alveolären Zahl an polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) ergab die niedrigsten Werte in der Sham- und der PER+Ilo-Gruppe. Die Anzahl der PMN in der PER-Gruppe war im Vergleich dazu etwa dreifach erhöht. Aufgrund der großen Varianz in dieser Gruppe ergab sich jedoch kein signifikanter Unterschied gegenüber den beiden anderen. (Tab. 12, Abb. 11)

Tab.12: Mittelwerte der polymorphkernigen neutrophilen Granulozytenzahl pro Alveolus (PMN/Alveolus).

	PER	PER+Ilo	Sham
PMN/Alveolus	14,23 ± 11,13	5,23 ± 0,97	5,18 ± 1,55

PMN/Alveolus	p-Wert
PER vs. Sham	0,371
PER vs. PER+Ilo	0,374
Sham vs. PER+Ilo	1,000

Die Gruppen wurden mit der einfaktoriellen ANOVA-Analyse verglichen. Als post hoc Test wurde der Tamhane T2 Test verwendet.

Signifikanzen: keine

PMN/Alveolus

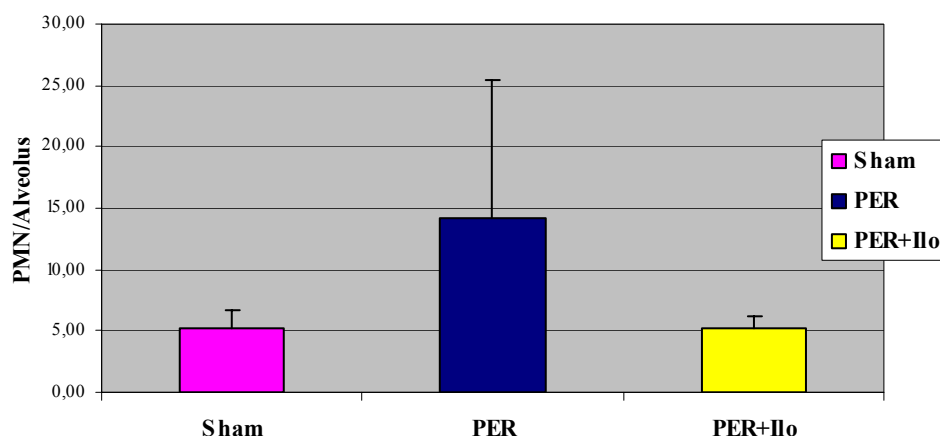


Abb.11: Darstellung der polymorphkernigen neutrophilen Granulozytenzahl pro Alveolus (PMN/Alveolus) als Mittelwerte über 6 h. Die Gruppen wurden mittels einfaktorieller ANOVA-Analyse verglichen. Als post hoc Test wurde der Tamhane T2 Test verwendet.

Signifikanzen: keine

4 Diskussion

4.1 Tierversuche in der medizinischen Forschung

In der Biologie und Medizin sind Tierversuche sowohl in der Grundlagenforschung als auch in der anwendungsorientierten Forschung bisher unerlässlich. Dies hat 2 wesentliche Gründe. Zum einen verbietet sich aus ethischen Gründen die Testung neuer Substanzen und Verfahren am Menschen, ohne vorher die Wirkungen und Risiken eruiert zu haben. Zum anderen sind zwar heutzutage einige tierexperimentelle Anordnungen durch biochemische Verfahren und Zellkulturen ersetzt oder ergänzt worden, aber viele wichtige Teilaspekte können nur in der Integrität eines lebenden Organismus erkannt werden. Hierzu gehören die zellulären und humoralen Reaktionen auf einen Reiz, eine Substanz oder einen Schaden, die in der Zellkultur nicht imitiert werden können. Gerade bei Operationstechniken wird dies noch deutlicher. Diese Verfahren können nur mit einem lebenden Organismus entwickelt und getestet werden. Daher wundert es nicht, dass gerade die Entwicklung der Organtransplantation auf geeigneten tierexperimentellen Modellen beruht. Auch die Pathophysiologie des I/R-Schadens konnte durch Tierversuche in Verbindung mit biochemischen Versuchen und Zellkulturen immer besser aufgeklärt werden. Dies bildete die Grundlage der Zusammenstellung geeigneter Konservierungslösungen, die ebenfalls vor der klinischen Anwendung im Tierexperiment getestet wurden. Die Übertragbarkeit der hierbei erhaltenen Ergebnisse auf den Menschen ist erstaunlich gut und nimmt mit der Verwandtschaft zum Menschen zu.

In der medizinischen Forschung unterscheidet man mehrere grundsätzliche Modellansätze. Zum einen existiert die Möglichkeit, ein ex-vivo-Modell zu verwenden. Hierbei wird dem Tier ein bestimmtes Organ oder Organpaket entnommen, das dann künstlich perfundiert und somit als solches funktionstüchtig erhalten wird. Als Beispiel wären hier das nach Langendorff präparierte Herz oder die extrakorporal perfundierten isolierten Organmodelle zu nennen. Derartige Versuchsaufbauten eignen sich besonders gut als Screening-Verfahren, die bevorzugt mit Organen von Kleintieren wie Ratten, Mäusen oder Kaninchen vollzogen werden. Diese Tiere sind leicht zu halten, haben kurze Generationszeiten und sind somit in großer Zahl mit relativ geringem Aufwand züchtbar. Durch eine solche Screening-Methode können in kurzer Zeit viele therapeutische Strategien auf ihre Wirkung, lokale Nebeneffekte und Schäden

untersucht werden. Als Nachteil eines solchen ex-vivo-Modells ist die kurze Zeit der Durchführbarkeit zu nennen, da durch die künstliche Perfusion nach einiger Zeit ein progredienter struktureller Schaden an den untersuchten Organen entsteht. Ebenso sind hierbei Regelkreise, die im intakten Organismus vorhanden sind, sowie die humoralen und zellulären Reaktionen ausgeschaltet, wodurch deren Einfluss nicht erkennbar wird. In-vivo-Modelle bei Kleintieren sind in der experimentellen Lungentransplantation zwar prinzipiell möglich, allerdings technisch aufwendiger. Deshalb folgen in der Regel diesen ex-vivo-Versuchen in-vivo-Verfahren, die bevorzugt an größeren Säugetieren, wie Schweinen, Hunden oder Affen durchgeführt werden. Dabei werden vielversprechende Ansätze, die durch extrakorporale Verfahren initiiert wurden, weiter evaluiert. Ein wesentlicher Vorteil liegt in der besseren Übertragbarkeit auf die klinische Situation. Dies ist durch Beobachtungen und Messungen der körperlichen Reaktionen auf die Manipulation zusätzlich zu lokalen Geschehnissen gut möglich. Außerdem sind die Ergebnisse aufgrund der näheren Verwandtschaft sowie der anatomischen und physiologischen Ähnlichkeit zum Menschen wesentlich aussagekräftiger als bei Kleinterversuchen. Substanzen und Verfahren, die sich bei derartigen Experimenten als hervorragend herausgestellt haben und mit geringen oder vertretbaren Nebenwirkungen verbunden waren, eignen sich dann zu ersten klinischen Versuchen. Nachteile der Großtierversuche liegen in dem komplizierteren Versuchsaufbau und in dem aufgrund der Tiergröße größeren Züchtungsaufwand.

4.2 Angewandtes Modell und Methodik

Im Rahmen dieser Dissertation wurde aus den oben genannten Gründen der besseren Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen ein in-vivo-Schweinemodell gewählt. Wegen der guten Erkenntnisse bezüglich der Haltung und der hohen Zuchtfrequenz ist dieses Verfahren ideal geeignet und im Bereich der Lungentransplantationsforschung allgemein anerkannt. Um Komplikationen und Fehlinterpretationen durch die bei Schweinen relativ häufig vorkommenden pulmonalen Infektionen vorzubeugen, stammten die Tiere aus einer nach landwirtschaftlichen Zuchttrichtlinien standardisierten und nach den international anerkannten Empfehlungen der FELASA für Versuchstiere in der biomedizinischen Forschung gesundheitlich kontrollierten Zucht (FELASA recommendations for the health monitoring of breeding colonies and experimental units of cats, dogs and pigs. 1998. Laboratory animals 32, 1-17). Als Modell wurde hierbei die orthotope Einzellungentransplantation mit anschließender Ausschaltung des

empfängereigenen rechten Lungenflügels gewählt. Dies hat mehrere Gründe. Die allogene Lungentransplantation hat gegenüber dem autologen Transplantationsmodell den Vorteil, dass das Organ in situ komplett konserviert und nach Entnahme in kalter Ischämie gelagert wird, was der klinischen Situation entspricht. Ebenfalls entsprechend dem klinischen Vorgehen wird die konservierte linke Organhälfte orthotop implantiert. Durch die Exklusion der Gegenseite, d.h. des empfängereigenen verbliebenen Lungenflügels, wird das Transplantat hohen Belastungen ausgesetzt, weil das gesamte Herzzeitvolumen dessen Strombahn passiert und das Spenderorgan alleine die Sauerstoffversorgung des Versuchstieres übernimmt. Somit kann durch dieses Manöver die Transplantatfunktion zuverlässig beurteilt werden, da Veränderungen der gemessenen Parameter ausschließlich von der perfundierten Lunge beeinflusst werden. Außerdem treten durch die hohe Druck- und Volumenbelastung funktionelle und später auch strukturelle Defizite der Lungenkonservierung frühzeitig in Erscheinung, wodurch schon geringe Unterschiede im Auftreten des I/R-Schadens gut erkennbar werden. Deshalb ist dieses Verfahren als sehr sensitiv für die Beurteilung der Konservierungsqualität beurteilt worden und hat sich als eine Standardmethode durchsetzen können (Steen et al. 1994, Stammberger et al. 2000a). Zusätzlich spiegelt es ebenso gut die klinische Situation einer sequentiellen doppelseitigen Lungentransplantation ohne Verwendung der extrakorporalen Zirkulation wieder, bei der nach Transplantation der einen Seite und Beginn der Transplantation der Gegenseite die Ventilation und Perfusion auf die schon implantierte Lungenseite beschränkt ist. Ähnlich verhält es sich bei Einzellungentransplantation bei primärer pulmonaler Hypertonie. Auch hier wird der transplantierte Lungenflügel aufgrund des hohen intravasalen Druckes der verbliebenen Lunge nahezu vom kompletten HZV durchströmt.

Die Größe der Gruppen wurde aus Gründen des Tierschutzes mit 5 Tieren gewählt, wie dies in verschiedenen tierexperimentellen Versuchsanordnungen ebenfalls beschrieben wird (Bhabra et.al 1996, De Perrot et. al 2001). Die Versuchstiere wurden randomisiert in die 3 Gruppen Sham, PER und PER+Ilo eingeteilt. Hierbei ist die Sham-Gruppe, bei der lediglich die Präparation und anschließende Exklusion der rechten Lungenseite sowie darauffolgende sechsstündige Nachbeobachtungszeit vorgenommen wurde, als optimale Vergleichsgruppe zu sehen. Da die nun allein perfundierte linke Lunge weder einer Ischämiezeit ausgesetzt war noch konserviert wurde, sollte sie die bestmögliche Lungenfunktion widerspiegeln, weil hier kein I/R-Schaden vorliegen kann. Diese

Gruppe ersetzt die in vielen Untersuchungen verwendete Vergleichsgruppe, die mit einer Euro-Collins®-Lösung konserviert wird. Aufgrund der mehrfach gezeigten signifikanten Überlegenheit von Perfadex® bei langen Lagerungszeiten und dem beginnenden Ersatz der EC im klinischen Alltag durch moderne Konservierungslösungen kann die Verwendung einer solchen Gruppe nicht mehr propagiert werden (Strüber et al. 2001, De Perrot et al. 2003). Außerdem ist aufgrund von anderen Untersuchungen anzunehmen, dass die Versuchstiere den langen Ischämiezeitraum bei Konservierung mit EC nicht tolerieren würden und die Transplantate mit Organversagen reagieren würden, was ethisch nicht vertretbar wäre.

Im Rahmen der oben beschriebenen Fragestellung nach einer deutlichen Verlängerung der Ischämiezeit wurden nicht die klinisch üblichen 6-8 Stunden, sondern eine Ausweitung auf 27 Stunden gewählt, nachdem mit Perfadex® bereits gute Ergebnisse nach 24 Stunden kalter Ischämie erzielt wurden (Steen et al. 1994). Nach gängiger Auffassung treten Unterschiede in der Konservierungsqualität erst nach langen Ischämiezeiten in Erscheinung. Aziz fand in einer retrospektiven klinischen Untersuchung, dass bei einem durchschnittlichen Intervall von 6-8 Stunden zwischen Ex- und Implantation keine signifikanten Unterschiede zwischen der Konservierung mit Perfadex® und EC aufgetreten sind (Aziz et al. 2003). Allerdings war Perfadex® bei längeren Konservierungszeiten der EC deutlich überlegen (Hausen et al. 1997a). Deshalb werden zusätzliche Verbesserungen des Konservierungsergebnisses der Perfadex®-Lösung durch ein adjuvantes Verfahren bei länger gewählter Ischämiezeit sicherlich deutlicher erkennbar werden. Die Lungen wurden in Analogie zur klinischen Praxis jeweils mit 60 ml/kg KG der Perfusionslösung gespült (Haverich et al. 1986, Steen et al. 1994). Die Perfusion erfolgte mittels Schwerkraft aus 30 cm Höhe, weil hierbei der effektive Perfusionsdruck im Bereich des normalen pulmonalarteriellen Mitteldruckes liegt, was wie oben beschrieben, als optimal akzeptiert ist. Da im Rahmen dieser Arbeit der Einfluss von inhalativem Iloprost untersucht werden soll, wurde die antegrade Applikation benutzt, um Vorteile der retrograden Perfusion nicht als Iloprostwirkung fehlzudeuten.

Die Temperatur der Konservierungslösung sowie die Lagerungstemperatur wurde mit 4°C gewählt, wie es ebenfalls momentaner klinischer Standard ist, obwohl einige Arbeitsgruppen aufgrund kleintierexperimenteller Versuche höhere Temperaturen als Optimum postulieren (Albes et al. 1997b, Strüber et al. 2000). Allerdings sind diese Ergebnisse weder im Großtierexperiment noch klinisch bestätigt.

Als Applikationsform des Adjuvans Iloprost wurde der inhalative Weg gewählt, da sich hierbei ca. 25% des Medikamentes in den Alveolen als Depot ablagern (Löckinger et al. 2001). Von hier aus wird durch Diffusion eine langsame Abgabe in die Arteriolen als Widerstandsgefäße erzielt, wobei das Prostaglandinderivat seine Wirkungen am Endothel entfalten kann. Ein weiterer Vorteil der Verneblung besteht in der ausschließlichen Dilatation von Gefäßen in der Nähe tatsächlich belüfteter Alveolen. Hierdurch kann durch Verminderung des Perfusions-/Ventilations-Mismatches eine gute Konservierung funktionell wichtiger Areale erreicht werden (Löckinger et al. 2001). Bei Zusatz des Wirkstoffes zur Perfusionslösung oder intrapulmonaler arterielle Infusion vor Perfusionsbeginn werden lediglich gut durchströmte Bereiche dilatiert. Dies kann bei Vorhandensein eines ausgeprägten Perfusions-/Ventilations-Mismatches und somit eines großen Shunt-Volumens zu einer Art „Steel-Phänomen“ führen, wobei eine homogene Konservierung des Organs nicht mehr gegeben ist (Olschewski et al. 1996). Da in einigen Studien eine bessere Vasodilatation durch die Verwendung von Iloprost erreicht werden konnte, wurden Prostacyclin oder PGE1 in dieser Dissertation durch eben diese Substanz ersetzt (Olschewski et al. 1996, Opitz et al. 2003).

Als Nachbeobachtungszeitraum wurden sechs Stunden gewählt. Dies entspricht zwar nicht der gesamten Zeit, in der der I/R-Schaden manifest werden kann, ist aber für die untersuchten Parameter in diesem Modell als ausreichend akzeptiert (Strüber et al. 2000).

4.3 Versuchsparameter

In der internationalen Literatur wird eine Vielzahl funktioneller, serologischer und struktureller Parameter zur Quantifizierung des Ausmaßes des I/R-Schadens verwendet. Die einzelnen Aussagen und Ergebnisse einzelner Arbeitsgruppen können daher nicht ohne weiteres miteinander verglichen werden. Erschwerend kommt hinzu, dass verschiedene Tiermodelle und dabei jeweils unterschiedliche Versuchsaufbauten verwendet werden. Einige Parameter konnten sich jedoch als allgemein anerkannte sensitive Prädiktoren durchsetzen. Der sensitivste Prädiktor der postoperativen Lungenfunktion, der sowohl im Tierexperiment als auch in der klinischen Lungentransplantation mit der postoperativen Lungenfunktion korreliert, ist die Oxygenierungsleistung (Haverich et al. 1985, Wang et al. 1989, Kirk et al. 1993). Hierfür wird oft der in der Blutgasanalyse ermittelte arterielle Sauerstoffpartialdruck angegeben. Um Differenzen durch unterschiedliche inspiratorische Sauerstofffraktionen

zu vermeiden, wurde in der vorliegenden Arbeit der arterielle Sauerstoffpartialdruck als entsprechender Index verwendet (p_aO_2/F_iO_2). Auch die alveolo-arterielle Sauerstoffdifferenz wird gelegentlich als Maß der Oxygenierungsleistung benutzt. Ein weiterer, vor allem klinisch etablierter wesentlicher Prädiktor für die postischämische Lungenfunktion ist die dynamische Compliance. Hier konnte die Arbeitsgruppe um Strüber eine enge Korrelation zu postoperativer Beatmungszeit, Aufenthalt auf der Intensivstation, spiroergometrischen Tests und Transplantatfunktion aufzeigen (Strüber et al. 2001). Ebenfalls als Maß für die Quantität des I/R-Schadens kann der Endothelschaden bzw. der Grad der Endotheldysfunktion herangezogen werden. Funktionell äußert sich ein ausgeprägter Endothelschaden mit einer entsprechenden Vasokonstriktion und damit verbunden einem Anstieg des pulmonalarteriellen Druckes. Als Maß für diese Vasokonstriktion erscheint jedoch der pulmonalvaskuläre Widerstand besser geeignet, weil hierbei das Herzzeitvolumen berücksichtigt wird, das den pulmonalarteriellen Druck wesentlich mitbestimmt. Diese hämodynamischen Parameter sollten aber nicht unkritisch betrachtet werden, da sie von einigen Störgrößen beeinflusst werden können (Haverich et al. 1986). Hierzu gehört zum einen die Denervierung des Transplantates, die eine nervale Beeinflussung des Gefäßwiderstandes ausschaltet und somit different zur nichtdenervierten Lunge der Sham-Gruppe ist. Ebenfalls ist die Qualität der Gefäßanastomosen an der jeweiligen Größe beteiligt, da hierbei hämodynamisch relevante Stenosen entstehen können. Der mPAP und der PVR werden auch durch die Exklusion der Gegenseite erhöht und können daher nicht den gängigen Normbereichen zugeordnet werden. Um letztgenannten Einfluss im direkten Gruppenvergleich zu eliminieren, wurde der rechte Lungenflügel in der Sham-Gruppe ebenfalls von Ventilation und Perfusion ausgeschlossen. Als Maß für den intrapulmonalen Wassergehalt und somit indirekt für das im Rahmen des I/R-Schadens entstehende Lungenödem ist seit vielen Jahren die Wet/Dry-Ratio allgemein akzeptiert (Haverich et al. 1985). Dieser „Feucht/Trocken-Quotient“ gibt den Quotienten des Gewichtes eines nativen Lungenteilstückes, welches unmittelbar am Ende des Beobachtungszeitraumes gewonnen wurde, zum Gewicht des entwässerten Präparates an. Fehlerquellen liegen in der Tatsache, dass die Flüssigkeit, die während des Trocknungsvorgangs verloren geht, nicht eindeutig einzelnen Strukturen im Präparat zugeordnet werden kann. So kann eine vermehrte Gefäßfüllung bei Vasodilatation aufgrund der hohen Anzahl von Blutgefäßen in der Lunge als Lungenödem fehlgedeutet werden. Ebenso kann nicht zwischen einem intraalveolären

und einem interstitiellen Ödem unterschieden werden. Eine genauere Bewertung dieser Situation ist mittels histologischer Verfahren wie der stereologischen Ödemquantifizierung möglich, welches im Rahmen dieser Dissertation aufgrund der hochkomplexen Bearbeitungsschritte nicht verwendet wurde. Auf die Erhebung serologischer Parameter wurde in dieser Arbeit zugunsten der klinischen Fokussierung verzichtet. Hier wären zum Beispiel diverse Zytokinmessungen, die Bestimmung von Malondialdehyd und Endothelin anzuführen, welche im pulmonalvenösen Blut mittels LA-Katheter aus dem linken Herzvorhof gewonnen werden können und damit spezifisch für Prozesse in der Lunge sind. Zytokine spiegeln gut die Qualität und Quantität der an der Entzündungsreaktion beteiligten Zellen wieder, Malondialdehyd korreliert gut mit dem Ausmaß der Lipidperoxidation, und die Plasmakonzentration von Endothelin geht eng mit dem Ausmaß der Schädigung des pulmonalen Endothels einher. Allerdings spiegeln serologische Werte immer nur den aktuellen Zustand wieder und sind nicht spezifisch für einzelne Lungenareale. So können in atelektatischen und geschädigten Lungenabschnitten produzierte Metabolite trotz guter Gesamtfunktion des Organs einen schlechteren Zustand vortäuschen. Ebenso ist durch die eingeleitete Reperfusion ein Anstieg der während der Ischämiezeit kumulierten Parameter zu verzeichnen, die nicht in jedem Fall mit dem Zustand der Lunge korrelieren. So konnte Shennib zeigen, dass kurz nach Start der Reperfusion die Plasmaspiegel von Endothelin am höchsten waren und nach einer Woche nahezu den Ausgangswert erreichten (Shennib et al. 1995). Als struktureller Parameter wurde in dieser Arbeit die Bestimmung der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten in den Alveolen (PMN/Alveolus) am Ende des Nachbeobachtungszeitraumes herangezogen. Wie bereits in Kapitel 1.3.2.2.4. näher ausgeführt, ist die Sequestration der PMN in der Lunge entscheidend an der Entstehung des I/R-Schadens beteiligt, und die Anzahl der eingewanderten Zellen korreliert mit der Ausprägung des I/R-Schadens (Eppinger et al. 1997, Fiser et al. 2001a). Durch Färbung mit Naphtol-AS-D-Chloracetat-Esterase lassen sich diese Zellen spezifisch anfärben und von anderen Zellen in den Alveolen unterscheiden.

4.4 Ergebnisse

4.4.1 Einfluss der Konservierungslösung Perfadex® auf die postoperative Transplantatfunktion

Trotz nicht uneingeschränkter Zufriedenheit mit der Euro-Collins Lösung sowie der maximal tolerablen Ischämiezeit von lediglich 6-8 Stunden ist die Einführung moderner Perfusate in die klinische Praxis zögerlich (Hopkinson et al. 1998, Meyers et al. 1999). Die deutliche Überlegenheit extrazellulärer Perfusate wie Perfadex® gegenüber der Euro-Collins®-Lösung, insbesondere bei extendierten Ischämiezeiten, konnte bereits in einigen tierexperimentellen und klinischen Studien evaluiert werden (Steen et al. 1993, Steen et al. 1994, Wittwer et al. 1999, Muller et al. 2002, Rabanal et al. 2003, Wittwer et al. 2003). Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit auf einen erneuten Vergleich mit der Euro-Collins®-Lösung verzichtet. Dass durch eine Konservierung mit Perfadex® auch nach 27 Stunden noch ausreichende funktionelle Ergebnisse erzielt werden können, konnte in dieser Arbeit einmal mehr unterstrichen werden. Der direkte Vergleich mit der Sham-operierten Gruppe ergab bezüglich nahezu aller untersuchten Parameter vergleichbare Ergebnisse. Lediglich bezüglich zweier Parameter erzielte die Perfadex®-Gruppe signifikant schlechtere Resultate. Zum einen war der Oxygenierungsindex mit 208 ± 112 mmHg deutlich niedriger als in der Sham-operierten Gruppe, die im Mittel 457 ± 52 mmHg erreichte ($p=0,01$). Trotz dieses Unterschiedes ist der in der Perfadex-Gruppe erreichte Oxygenierungsindex ausreichend und blieb im gesamten Verlauf stabil. Zum anderen war der mittlere pulmonalarterielle Blutdruck mit mittleren Werten von $45,9 \pm 6,27$ mmHg in der mit Perfadex® konservierten Gruppe im Vergleich zu $27,1 \pm 5,92$ mmHg in der Sham-Gruppe noch deutlicher höher ($p=0,001$). Dieser Unterschied wurde bei der Betrachtung des pulmonalvaskulären Widerstandes nicht wiedergefunden, obwohl die Werte in der Perfadex®-Gruppe mehr als zweimal so groß waren. Da es bei Alteration des Endothels zu einer ausgeprägten Vasokonstriktion und konsekutiv zu einer Erhöhung des PVR kommt, kann angenommen werden, dass das Endothel weitestgehend intakt war. Durch eine vergleichbare Wet/Dry-Ratio, die mit dem Ausmaß des Lungenödems korreliert, wird dies bestätigt. Erfreulicherweise ergab sich bei der Betrachtung der dynamischen Compliance kein Unterschied. Dies deutet auf eine weitestgehende Intaktheit des surfactantproduzierenden Systems hin. Eine Erklärung dafür bietet die Erkenntnis, dass Perfusate mit niedrigem Kaliumgehalt

aufgrund der geringeren Vasokonstriktion zu einer gleichmäßigeren Perfusion des Organs führen. Des Weiteren soll der Gehalt an Dextranen einen erhöhten onkotischen Druck erzeugen und somit die Zellschwellung, die mit einer Funktionseinbuße einhergeht, minimieren (Flores J 1972, Jamison RL 1974, D'Allesandro et al. 1986, Steen et al. 1993). Die Ergebnisse dieser Arbeit stimmen weitestgehend mit den Resultaten überein, die Steen und Kollegen 1994 nach 24-stündiger Ischämiezeit und Konservierung mit Perfadex im Vergleich zu einer Sham-operierten Gruppe erzielten (Steen, et al., 1994) und widersprechen der Ansicht, dass eine Konservierung mit Perfadex nach mehr als 20 Stunden Ischämiezeit zum Verlust der postoperativen Organfunktion und irreversiblen Rechtsherzversagen führe (Stammberger et al. 1998).

4.4.2 Einfluss einer inhalativen Spendervorbehandlung mittels des Prostazyklin-Analogons Iloprost (Ilomedin[®]) auf die Konservierungsqualität mit Perfadex[®]

Neben der Wahl der Konservierungslösung sind in der Literatur eine unüberschaubare Zahl an Adjuvantien und Methoden beschrieben, die zum einen eine bessere Protektion des Parenchyms und des Endothels bewirken und zum anderen in Kaskaden protektiv eingreifen, die den I/R-Schaden wesentlich mitbedingen. Ein schon kurz nach der Einführung der Single-Flush-Perfusion verwendetes Verfahren stellt die Zugabe von Prostaglandinen zum Perfusat dar. Dies erfolgte damals vor dem Hintergrund, der ausgeprägten Vasokonstriktion entgegenzuwirken, die durch die Hypothermie und den hohen Kaliumgehalt der verwendeten Euro-Collins[®]-Lösung bedingt ist (Jurmann et al., 1987). Die Entwicklung moderner extrazellulärer Konservierungslösungen ließ den Gebrauch der Prostaglandine entbehrlich erscheinen, da in mehreren Untersuchungen keine Verbesserung der Lungenprotektion durch deren Zusatz zur Lösung erzielt werden konnte (Ueno T et al. 1991, De Perrot et al. 2001). Eine Erklärung könnte in der Verteilung des Medikamentes mit dem Blut- bzw. Perfusatstrom liegen. Hierdurch entfaltet es seine vasodilatativen Wirkungen vor allem in den gut perfundierten aber schlechter belüfteten basalen Arealen, was zu einem Steal-Phänomen führt und den Shuntfluss erhöht. Ein erhöhtes Ventilations/Perfusionsmismatch ist die Folge (Siobal 2004). Somit führt eine intravenöse Applikation oder die Zugabe zur Konservierungslösung zu einer ungünstigen Verteilung des Perfusates, so dass eventuell zytoprotektive und antiinflammatorische Effekte der Prostaglandine hierdurch nicht zur Geltung kommen oder die negativen Effekte dieses Steal-Phänomens überwiegen.

Dieser Ansicht widerspricht jedoch eine aktuelle Veröffentlichung von Gohrbandt und Mitarbeitern. In einem in vivo Großtiermodell konnten sie durch Zugabe von 250µg Iloprost zur Konservierungslösung (LPD) eine signifikante Verbesserung der Konservierungsleistung nach einer Ischämiezeit von 24 Stunden erzielen. Dies äußerte sich im Einzelnen in einem niedrigeren PVR, einer geringeren Wet/Dry-Ratio, einer verminderten Neutrophilensequestration in den Alveolen sowie einer geringeren alveolären Oberflächenspannung (Gohrbandt et al. 2005). Der Unterschied zur Vergleichsgruppe, die lediglich mit LPD konserviert wurde, wird den zytoprotektiven sowie antiinflammatorischen Eigeneffekten des Prostaglandinanalogs zugeschrieben. Da in dem verwendeten Modell Lungen junger, gesunder Schweine verwendet wurden, ist es möglich, dass aufgrund der hohen Organqualität und bei entsprechender Inflation eine relativ homogene Verteilung des Perfusats erfolgte und das erwähnte Steal-Phänomen nur eine geringe Bedeutung hatte. Ob die Ergebnisse bei Verwendung von nicht optimalen Spendern, die bei unterschiedlich guter Qualität einzelner Lungenareale einen erhöhten Shuntfluss vorweisen, reproduzierbar ist, bleibt Gegenstand künftiger klinischer Untersuchungen. Anhand der oben gemachten Äußerungen wäre dies jedoch nicht zu erwarten.

Obwohl Prostaglandine in der klinischen Lungentransplantation bei Verwendung moderner Perfusate in den letzten Jahren in den Hintergrund traten, wurden sie jedoch weiterhin aufgrund der vasodilatativen Wirkung in der Behandlung der pulmonalen Hypertonie und des ARDS eingesetzt. Da jedoch schwere systemische Nebenwirkungen durch die intravenöse Verabreichung auftraten, wurde die endobronchiale Applikation mittels Ultraschallverneblung mit gutem Erfolg etabliert (Walmrath D et al. 1993, Olschewski H et al. 1996, Walmrath D et al. 1997). Hierdurch konnte der pulmonalvaskuläre Widerstand gesenkt werden, ohne den systemischen Widerstand zu beeinflussen. In letzter Zeit wurde diese Methode ebenfalls zur Behandlung eines I/R-Schadens herangezogen, da zwischen dem ARDS und dem I/R-Schaden pathophysiologische Ähnlichkeiten bestehen. Löckinger und Kollegen etablierten hierzu ein ex vivo Kaninchenlungenmodell, in dem sie experimentell einen I/R-Schaden setzten und den Effekt einer inhalativen Iloprost-Behandlung während der Reperfusionphase beobachteten. Hierbei erzeugte der Ultraschall ein alveolengängiges Aerosol mit einer mittleren Molekülgröße von ca. 4,5 µm, welches mit dem Atemstrom in die Alveolen gelangte und dort als Depot verblieb. Durch die langsame Diffusion ins Interstitium und die Gefäße entfaltete es eine retardierte Wirkung. Die Dilatation der

Widerstandsgefäße in gut belüfteten Bereichen führte hier zu einer besseren Perfusion. Daraus ergaben sich eine Blutumverteilung in der Lunge zugunsten dieser Areale und ein verminderter Shuntfluss in den schlechter belüfteten basalen Lungenarealen. Daraufhin wurde das Ventilations-/Perfusions-Verhältnis verbessert (Löckinger et al., 2001, Schütte et al., 2001). Mit diesen Erkenntnissen wurde in der vorliegenden Arbeit nun erstmals eine inhalative Applikation von Iloprost vor Konservierungsbeginn durchgeführt. Dies sollte zu einer entsprechenden Vasodilatation und somit zu einer homogenen und schonenderen Perfusion führen. In dieser Arbeit konnte die These bestätigt werden, denn ein signifikant niedrigerer Perfusionsdruck bei gleichem Perfusatfluss ist nur durch eine Vergrößerung des durchflossenen Gefäßquerschnittes möglich, was durch eine Senkung des pulmonalvaskulären Widerstands verwirklicht wird. Hierbei werden zum einen Blutbestandteile besser ausgewaschen. Folglich sollte der Anteil der Gefäße, die in der Reperfusionsphase durch Thrombozyten- und Erythrozytenaggregate verlegt wird, geringer sein. Zum anderen können die protektiven Wirkungen der Konservierungslösung durch den ausgiebigeren Kontakt mit dem Endothel und Parenchym besser realisiert werden. Beides führt zu einer Verbesserung der postoperativen Organfunktion, die sich in diesem experimentellen Ansatz in einer signifikant besseren Compliance und Wet/Dry-Ratio im Vergleich zur lediglich mit Perfadex[®] perfundierten Gruppe zeigt. Auch die Sequestration der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten in den Alveolen war in der mit Iloprost behandelten Gruppe deutlich niedriger als in der Perfadex[®]-Gruppe. Dieser Parameter unterschied sich aber nicht signifikant, was zum einen auf die große Streubreite in der Perfadex[®]-Gruppe zurückzuführen ist. Zum anderen muß hier bemerkt werden, dass die Entnahmestelle aus der Lingula des linken Oberlappens aus technischen Gründen vorgenommen wurde und nicht in jedem Fall repräsentativ für die gesamte Lunge ist. Ein dritter Punkt, der hier relevant wird, ist der zweizeitige Verlauf der Entzündungsreaktion (Eppinger et. al 1995b, Eppinger et al. 1997, Fiser et al. 2001a), so dass im weiteren Verlauf durchaus ein signifikanter Unterschied in der Zahl der polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten zu erwarten wäre. Inwiefern zu diesen mit der Sham-Gruppe vergleichbaren Resultaten direkte zytoprotektive und antiinflammatorische Wirkungen von Iloprost beitragen, kann anhand der erhobenen Parameter nicht entschieden werden. Allerdings ist nach einer Ischämiezeit von 27 Stunden eher von einem geringeren Anteil solcher cAMP-vermittelter Wirkungen auszugehen.

Die inhalative Verabreichung von Iloprost ist ein technisch einfach umsetzbares Verfahren und kann während der Reperfusionphase jederzeit wiederholt werden, so dass eine Kombination aus Spendervorbehandlung vor Konservierungsbeginn und wiederholter Iloprostapplikation an den Empfänger während der Reperfusionphase und bei eventuell entstehendem I/R-Schaden durchaus denkbar ist. Inwieweit hierbei eine weitere Verbesserung der Konservierungsleistung möglich ist, bleibt Gegenstand künftiger Untersuchungen.

4.4.3 Schlussfolgerungen

In diesem Abschnitt sollen aufgrund der in der bisherigen Auswertung gemachten Äußerungen und Ergebnissen die Fragestellungen des Abschnittes 1.5 bearbeitet werden.

1. Wie gut ist die Funktion der Lunge nach antegrader Konservierung mit Perfadex® bei einer kalten Ischämiezeit von 27 Stunden im Vergleich zu einer ebenso präparierten und geklemmten, aber nicht konservierten und nicht transplantierten Sham-Gruppe?

Der Vergleich der mit Perfadex® konservierten Gruppe mit der als Optimum einzustufenden Sham-operierten Kontrollgruppe erbrachte hinsichtlich der in dieser Arbeit erhobenen Parameter lediglich im Bereich des Oxygenierungsindex signifikante Unterschiede zugunsten der Sham-Kontrollgruppe. Insgesamt konnte jedoch die in anderen Untersuchungen festgestellte gute Konservierungsleistung des extrazellulären Perfusates Perfadex® bestätigt werden. Daraus kann geschlossen werden, dass gerade bei extendierten Ischämiezeiten jenseits von 20 Stunden durch Perfadex®-Konservierung eine zuverlässige postoperative Organfunktion ermöglicht werden kann. Die klinisch immer noch gebräuchliche Organperfusion mit intrazellulären Perfusaten sollte deshalb zugunsten moderner extrazellulärer Perfusate wie Perfadex® verlassen werden.

2. Kann durch die inhalative Spendervorbehandlung mit 100 µg Iloprost (Ilomedin®, Fa. Schering, Deutschland) vor Konservierung mit Perfadex® die postischämische Lungenfunktion weiter optimiert werden?

Im Gegensatz zur intravenösen Applikation oder Zugabe zur Perfusionslösung kann durch das innovative Verfahren der inhalativen Prostaglandinverabreichung auch bei Konservierung mit modernen extrazellulären Perfusaten eine weitere Verbesserung der postischämischen Organfunktion erzielt werden. Durch die Verneblung des langwirksamen Prostazyklin-Analogons Iloprost vor Konservierungsbeginn wird durch Umverteilung des Perfusatflusses zugunsten der funktionell wichtigen ventilierten

Lungenareale bei gleichzeitig niedrigerem pulmonalvaskulären Widerstand eine schonendere und bessere Perfusion dieser Bereiche möglich. Weitere Vorteile dieses Verfahrens liegen in den nahezu nicht vorhandenen systemischen Nebenwirkungen und der Einfachheit der Anwendung begründet. Es ist möglich, in der Reperfusionsphase jederzeit die Iloprostverneblung erneut anzuwenden. Inwiefern hierdurch die Organfunktion weiter verbessert werden oder der Anteil der Patienten mit I/R-Schaden gesenkt werden kann, bleibt Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Die klinische Bedeutung der Erkenntnisse dieser Arbeit liegt in der Möglichkeit der Erweiterung des Spenderpools. Es konnte erneut bestätigt werden, dass durch Perfadex®-Konservierung eine deutliche Ausweitung der tolerablen Ischämiezeit auf über 20 Stunden mit ausreichender frühpostoperativer Organfunktion möglich ist. Durch zusätzliche aerosolisierte Iloprost-Applikation vor Konservierungsbeginn ist diese Funktion bezüglich der erhobenen Parameter einer gesunden Lunge vergleichbar. Dies eröffnet die Möglichkeit, Lungen nicht optimaler Spender mit gutem Ergebnis zu verwenden, weil zur Vorschädigung keine wesentlichen weiteren Schäden während Ischämie und Reperfusion hinzukommen. Durch die ausgeweiteten Ischämiezeiten wird der Einzugsbereich der Transplantationszentren erweitert und somit eine europaweite perspektivisch sogar weltweite Zusammenarbeit der Transplantationszentren mit den Spenderkrankenhäusern wesentlich erleichtert. Ein weiterer klinischer Vorteil, der sich aus den hier gemachten Ergebnissen ergibt, ist der kürzere und komplikationsärmere frühpostoperative Zeitraum.

5 Literaturverzeichnis

1. Albes JM, Brandes H, Heinemann MK, Scheule A and Wahlers T. 1997a. Potassium-Reduced Lung Preservation Solutions: A Screening Study. *Eur Surg Res*, 29 (5): 327-338.
2. Albes JM, Fischer F, Bando T, Heinemann MK, Scheule A and Wahlers T. 1997b. Influence of the Perfusate Temperature on Lung Preservation: Is There an Optimum? *Eur Surg Res*, 29 (1): 5-11.
3. Aoe M, Okabayashi K, Cooper JD and Patterson GA. 1996. Hyperinflation of canine lung allografts during storage increases reperfusion pulmonary edema. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 112 (1): 94-102.
4. Arbibe L, Koumanov K, Vial D, Rougeot C, Faure G, Havet N, Longacre S, Vargaftig BB, Bereziat G, Voelker DR, Wolf C and Touqui L. 1998. Generation of Lyso-Phospholipids from Surfactant in acute Lung Injury is mediated by Type-II Phospholipase A2 and inhibited by a direct Surfactant Protein A-Phospholipase A2 Protein Interaction. *J Clin Invest*, 102 (6): 1152-1160.
5. Aziz TM, Pillay TM, Corris PA, Forty J, Hilton CJ, Hasan A and Dark JH. 2003. Perfadex for Clinical Lung Procurement: Is it an Advance? *Ann Thorac Surg*, 75 (3): 990-995.
6. Baldwin JC, Frist WH, Starkey TD, Harjula A, Starnes VA, Stinson EB, Oyer PE and Shumway NE. 1987. Distant graft procurement for combined heart and lung transplantation using pulmonary artery flush and simple topical hypothermia for graft preservation. *Ann Thorac Surg*, 43 (6): 670-673.
7. Bhabra MS, Hopkinson DN, Shaw TE and Hooper TL. 1996. Relative importance of prostaglandin/cyclic adenosine monophosphate and nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate pathways in lung preservation. *Ann Thorac Surg* 5: 1494-1499.

8. Bittner HB, Kendall SW, Chen EP and Van Trigt P. 1995a. Endocrine changes and metabolic responses in a validated canine brain death model. *J Crit Care*, 10 (2): 56-63.
9. Bittner HB, Kendall SW, Chen EP, Craig D and Van Trigt P. 1995b. The effects of brain death on cardiopulmonary hemodynamics and pulmonary blood flow characteristics. *Chest*, 108 (5): 1358-1363.
10. Blumenstock DA, Otte HP, Grosjean OB and Mulder MA. 1969. Transplantation of the Lung. *Transplant Proc*, 1 (1): 223-229.
11. Boscoe MJ, Goodwin AT, Amrani M and Yacoub MH. 2000. Endothelins and the Lung. *Int J Biochem Cell Biol*, 32 (1): 41-62.
12. Bouchet A. 2000. Geschichte der Chirurgie vom Ende des 18.Jahrhunderts bis zur Gegenwart. In: *Illustrierte Geschichte der Medizin*. genehmigte Lizenzausgabe für Weltbild GmbH, Augsburg (2000): 1512-1513.
13. Carbognani P, Rusca M, Solli P, Spaggiari L, Alessandrini F, Ferrari C, Cattelani L, Dal Corso H and Bobbio P. 1997. Pneumocytes Type II ultrastructural Modifications after Storage in Preservation Solutions for Transplantation. *Eur Surg Res*, 29 (5): 319-326.
14. Carpenter T, Schomberg S, Steudel W, Ozimek J, Colvin K, Stenmark K and Ivy DD. 2003. Endothelin B Receptor Deficiency predisposes to Pulmonary Edema Formation via increased Lung Vascular Endothelial Cell Growth Factor Expression. *Circ Res*, 93 (5): 456-463.
15. Casals C, Varela A, Ruano ML, Valino F, Pérez-Gil J, Torre N et al. 1998. Increase of C-reactive protein and decrease of surfactant protein A in surfactant after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 157 (1): 43-49.

16. Chen CZ, Gallagher RC, Ardery P, Dyckman W, Donabue S and Low HB. 1997. Retrograde Flush and Cold Storage for Twenty-two to Twenty-five Hours Lung Preservation with and without Prostaglandin E1. *J Heart Lung Transplant*, 16 (6): 658-666.

17. Clavien PA, Harvey PR and Strasberg SM. 1992. Preservation and Reperfusion Injuries in Liver Allografts. An Overview and Synthesis of Current Studies. *Transplantation*, 53 (5): 957-978.

18. Cooper JD. 1987. Lung Transplantation: A new Era. *Ann Thorac Surg*, 44 (5): 447-448.

19. Cooper JD, Pearson FG, Patterson GA, Todd TR, Ginsberg RJ, Goldberg M and DeMajo WA. 1987. Technique of successful lung transplantation in humans. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 93 (2): 173-181.

20. D'Allesandro A, Southard JH, Kalayglou M, Belzer FO. 1986. Comparison of cold storage and perfusion of dog livers on function of tissue slices. *Cryobiology*, 23: 161-167

21. Date H, Matsumura A, Manchester JK, Cooper JM, Lowry OH and Cooper JD. 1993. Changes in alveolar oxygen and carbon dioxide concentration and oxygen consumption during lung preservation. The maintenance of aerobic metabolism during lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 105 (3): 492-501.

22. De Perrot M, Liu M, Waddell TK and Keshavjee S. 2003. Ischemia-Reperfusion-induced Lung Injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 167 (4): 490-511.

23. De Perrot M, Sekine Y, Fischer S, Waddell TK, McRae K, Liu M, Wigle DA and Keshavjee S. 2002. Interleukin-8 Release during Early Reperfusion Predicts Graft Function in Human Lung Transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 165 (2): 211-215.

24. De Perrot M, Fischer S, Liu M, Jin R, Bai XH, Waddell TK and Keshavjee S. 2001. Prostaglandin E1 protects Lung Transplants from Ischemia-Reperfusion Injury: A Shift from Pro- to Anti-Inflammatory Cytokines. *Transplantation*, 72 (9): 1505-1512.
25. DeCampos KN, Keshavjee S, Liu M and Slutsky AS. 1998. Optimal Inflation Volume for Hypothermic Preservation of Rat Lungs. *J Heart Lung Transplant*, 17 (6): 599-607.
26. Demikhov VP. 1969. [Transplantation of the Heart, Lungs and other Organs]. *Eksp Khir Anesteziol*, 14 (2): 3-8.
27. DSO. 25.01.2005. Deutsche Stiftung Organtransplantation: Graphik Lungentransplantation. www.dso.de
28. Eppinger MJ, Deeb GM, Bolling SF and Ward PA. 1997. Mediators of Ischemia-Reperfusion Injury of Rat Lung. *Am J Pathol*, 150 (5): 1773-1784.
29. Eppinger MJ, Ward PA, Jones ML, Bolling SF and Deeb GM. 1995a. Disparate Effects of Nitric Oxide on Lung Ischemia-Reperfusion Injury. *Ann Thorac Surg*, 60 (5): 1169-1175; Discussion 1176.
30. Eppinger MJ, Jones ML, Deeb GM, Bolling SF and Ward PA. 1995b. Pattern of injury and the role of neutrophils in reperfusion injury of rat lung. *J Surg Res*, 58 (6): 713-718.
31. Erasmus ME, Hofstede GJ, Petersen AH, Haagsman HP, Oetomo SB and Prop J. 1997. Effects of Early Surfactant Treatment Persisting for One Week after Lung Transplantation in Rats. *Am J Respir Crit Care Med*, 156 (2 Pt 1): 567-572.
32. Erasmus ME, Petersen AH, Hofstede G, Haagsman HP, Bambang Oetomo S and Prop J. 1996. Surfactant treatment before reperfusion improves the immediate function of lung transplants in rats. *Am J Respir Crit Care Med*, 153 (2): 665-670.

33. Fehrenbach A, Wittwer T, Meyer D, von Vietinghoff S, Viehover M, Fehrenbach H, Richter J and Wahlers T. 2001. Nitroglycerin Alters Alveolar Type II Cell Ultrastructure After Ischemia and Reperfusion. *J Heart Lung Transplant*, 20 (8): 876-888.
34. Fehrenbach H. 2001. Alveolar epithelial type II cell: Defender of the alveolus revisited. *Respir Res*, 2 (1): 33-46.
35. Fischer S, Renz D, Schaper W and Karliczek GF. 2001a. In vitro effects of dexamethasone on hypoxia-induced hyperpermeability and expression of vascular endothelial growth factor. *Eur J Pharmacol*, 411 (3): 231-243.
36. Fischer S, Liu M, MacLean AA, de Perrot M, Ho M, Cardella JA, Zhang XM, Bai XH, Suga M, Imai Y and Keshavjee S. 2001b. In vivo transtracheal adenovirus-mediated transfer of human interleukin-10 gene to donor lungs ameliorates ischemia-reperfusion injury and improves early posttransplant graft function in the rat. *Hum Gene Ther*, 12 (12): 1513-1526.
37. Fischer S, Cassivi SD, Xavier AM, Cardella JA, Cutz E, Edwards V, Liu M and Keshavjee S. 2000a. Cell death in human lung transplantation: Apoptosis induction in human lungs during ischemia and after transplantation. *Ann Surg*, 231 (3): 424-431.
38. Fischer S, Maclean AA, Liu M, Cardella JA, Slutsky AS, Suga M, Moreira JF and Keshavjee S. 2000b. Dynamic changes in apoptotic and necrotic cell death correlate with severity of ischemia-reperfusion injury in lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 162 (5): 1932-1939.
39. Fiser SM, Tribble CG, Long SM, Kaza AK, Kern JA, Jones DR, Robbins MK and Kron IL. 2002. Ischemia-Reperfusion Injury After Lung Transplantation Increases Risk of Late Bronchiolitis Obliterans Syndrome. *Ann Thorac Surg*, 73 (4): 1041-1047; Discussion 1047-1048.

40. Fiser SM, Tribble CG, Long SM, Kaza AK, Cope JT, Laubach VE, Kern JA and Kron IL. 2001a. Lung transplant reperfusion injury involves pulmonary macrophages and circulating leukocytes in a biphasic response. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 121 (6): 1069-1075.
41. Fiser SM, Cope JT, Kron IL, Kaza AK, Long SM, Kern JA, Tribble CG and Lowson SM. 2001b. Aerosolized prostacyclin (Epoprostenol) as an alternative to inhaled nitric oxide for patients with reperfusion injury after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 121 (5): 981-982.
42. Fisher AB, Dodia C, Tan ZT, Ayene I and Eckenhoﬀ RG. 1991. Oxygen-dependent lipid peroxidation during lung ischemia. *J Clin Invest*, 88 (2): 674-679.
43. Flores J. 1972. The role of cellular swelling in ischemic renal damage and the protective effects of hypertonic solute. *J Clin Invest*, 51: 118-126
44. Follette DM, Rudich SM and Babcock WD. 1998. Improved oxygenation and increased lung donor recovery with high-dose steroid administration after brain death. *J Heart Lung Transplant*, 17 (4): 423-429.
45. Fukuse T, Hirata T, Ishikawa S, Shoji T, Yoshimura T, Chen Q, Matsukura T, Hanaoka N and Wada H. 2001. Optimal alveolar oxygen concentration for cold storage of the lung. *Transplantation*, 72 (2): 300-304.
46. Fukuse T, Albes JM, Brandes H, Takahashi Y, Demertzis S and Schafers HJ. 1996. Comparison of low potassium Euro-Collins solution and standard Euro-Collins solution in an extracorporeal rat heart-lung model. *Eur J Cardiothorac Surg*, 10 (8): 621-627.
47. Gohrbandt B, Sommer S, Fischer S, Hohlfeld JM, Warnecke G, Haverich A and Strüber M. 2005. Iloprost to improve surfactant function in porcine pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 129 (1): 80-86.

48. Gomez-Garre D, Guerra M, Gonzalez E, Lopez-Farre A, Riesco A, Caramelo C, Escanero J and Egido J. 1992. Aggregation of human polymorphonuclear leukocytes by endothelin: Role of platelet-activating factor. *Eur J Pharmacol*, 224 (2-3): 167-172.
49. Grover FL, Fullerton DA, Zamora MR, Mills C, Ackerman B, Badesch D, Brown JM, Campbell DN, Chetham P, Dhaliwal A, Diercks M, Kinnard T, Niejadlik K and Ochs M. 1997. The Past, Present, and Future of Lung Transplantation. *Am J Surg*, 173 (6): 523-533.
50. Halbhuber K-J. 1998. Respirationssystem. In: Linß W und Fanghänel J. *Histologie: Zytologie, allgemeine Histologie, mikroskopische Anatomie*. 1. Auflage. Berlin/New York: De Gruyter (1998), 143.
51. Haniuda M, Hasegawa S, Shiraishi T, Dresler CM, Cooper JD and Patterson GA. 1996. Effects of inflation volume during lung preservation on pulmonary capillary permeability. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 112 (1): 85-93.
52. Hardesty RL and Griffith BP. 1985. Procurement for combined heart-lung transplantation. Bilateral thoracotomy with sternal transection, cardiopulmonary bypass, and profound hypothermia. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 89 (5): 795-799.
53. Hardy JD. 1999. The first lung transplant in man (1963) and the first heart transplant in man (1964). *Transplant Proc*, 31 (1-2): 25-29.
54. Hausen B, Beuke M, Schroeder F, Poets CF, Hewitt C, DelRossi AJ and Schafers HJ. 1997a. In vivo measurement of lung preservation solution efficacy: Comparison of LPD, UW, EC and low K⁺-EC following short and extended ischemia. *Eur J Cardiothorac Surg*, 12 (5): 771-779; Discussion 779-780.
55. Hausen B, Rohde R, Hewitt CW, Schroeder F, Beuke M, Ramsamooj R, Schafers HJ and Borst HG. 1997b. Exogenous surfactant treatment before and after sixteen hours of ischemia in experimental lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 113 (6): 1050-1058.

56. Haverich A, Wahlers T, Schafers HJ, Ziemer G, Cremer J, Fieguth HG and Borst HG. 1990. Distant organ procurement in clinical lung- and heart-lung transplantation. Cooling by extracorporeal circulation or hypothermic flush. *Eur J Cardiothorac Surg*, 4 (5): 245-249.
57. Haverich A, Aziz S, Scott WC, Jamieson SW and Shumway NE. 1986. Improved lung preservation using Euro-Collins solution for flush-perfusion. *Thorac Cardiovasc Surg*, 34 (6): 368-376.
58. Haverich A, Scott WC and Jamieson SW. 1985 Twenty years of lung preservation - a review. *J Heart Transplant*, 4 (2): 234-240.
59. Hiramatsu Y, Muraoka R, Chiba Y and Sasaki M. 1994. Influence of pH of Preservation Solution on Lung Viability. *Ann Thorac Surg*, 58 (4): 1083-1086.
60. Hopkinson DN, Bhabra MS and Hooper TL. 1998. Pulmonary Graft Preservation: A Worldwide Survey of Current Clinical Practice. *J Heart Lung Transplant*, 17 (5): 525-531.
61. Hopkinson DN, Odom NJ, Bridgewater BJ and Hooper TI. 1996. Comparison of saccharides as osmotic impermeants during hypothermic lung graft preservation. *Transplantation*, 61 (12): 1667-1671.
62. Hopkinson DN, Odom NJ, Bridgewater BJ and Hooper TL. 1994. University of Wisconsin Solution for Lung Graft Preservation: Which Components are Important? *J Heart Lung Transplant*, 13 (6): 990-997.
63. ISHLT. 25.01.2005. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation. www.isHLT.org/registries/heartLungRegistries/slides
64. Itano H, Zhang W, Ritter JH, McCarthy TJ, Mohanakumar T and Patterson GA. 2000. Adenovirus-mediated gene transfer of human interleukin 10 ameliorates reperfusion injury of rat lung isografts. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 120 (5): 947-956.

65. Jamison RL. 1974. The role of cellular swelling in the pathogenesis of organ ischemia. *West J Med*, 120: 205-218
66. Jurmann MJ, Dammenhayn L, Schafers HJ, Wahlers T, Fieguth HG and Haverich A. 1987. Prostacyclin as an additive to single crystalloid flush: Improved pulmonary preservation in heart-lung transplantation. *Transplant Proc*, 19 (5): 4103-4104.
67. Karck M and Haverich A. 1992. Nifedipine and Diltiazem reduce pulmonary edema formation during postischemic reperfusion of the rabbit lung. *Res Exp Med (Berl)*, 192 (2): 137-144.
68. Kawashima M, Nakamura T, Schneider S, Vollmar B, Lausberg HF, Bauer M, Menger MD and Schafers HJ. 2003. Iloprost Ameliorates Post-Ischemic Lung Reperfusion Injury and Maintains an Appropriate Pulmonary ET-1 Balance. *J Heart Lung Transplant*, 22 (7): 794-801.
69. Keshavjee SH, Yamazaki F, Yokomise H, Cardoso PF, Mullen JB, Slutsky AS and Patterson GA. 1992. The role of dextran 40 and potassium in extended hypothermic lung preservation for transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 103 (2): 314-325.
70. Keshavjee SH, Yamazaki F, Cardoso PF, McRitchie DI, Patterson GA and Cooper JD. 1989. A method for safe twelve-hour pulmonary preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 98 (4): 529-534.
71. Kim JD, Baker CJ, Roberts RF, Darbinian SH, Marcus KA, Quardt SM, Starnes VA and Barr ML. 2000a. Platelet activating factor acetylhydrolase decreases lung reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*, 70 (2): 423-428.
72. Kim YS, Lim CS, Kim S, Lee JS, Lee S, Kim ST, Kim HJ and Chae DW. 2000b. Cadaveric renal allograft at the time of implantation has the similar immunological features with the rejecting allograft. *Transplantation*, 70 (7): 1080-1085.

73. Kimblad PO, Sjoberg T, Massa G, Solem JO and Steen S. 1991. High potassium contents in organ preservation solutions cause strong pulmonary vasocontraction. *Ann Thorac Surg*, 52 (3): 523-528.
74. Kirk AJ, Colquhoun IW and Dark JH. 1993. Lung Preservation: A Review of Current Practice and Future Directions. *Ann Thorac Surg*, 56 (4): 990-100.
75. Koletsis E, Chatzimichalis A, Fotopoulos V, Kokkinis K, Papadimitriou E, Tiniakos D, Marinos E, Bellenis I and Dougenis D. 2003. Donor lung pretreatment with surfactant in experimental transplantation preserves graft hemodynamics and alveolar morphology. *Exp Biol Med (Maywood)*, 228 (5): 540-545.
76. Lima O, Goldberg M, Peters WJ, Ayabe H, Townsend E and Cooper JD. 1982. Bronchial omentopexy in canine lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 83 (3): 418-421.
77. Liu M, Tremblay L, Cassivi SD, Bai XH, Mourgeon E, Pierre AF, Slutsky AS, Post M and Keshavjee S. 2000. Alterations of nitric oxide synthase expression and activity during rat lung transplantation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 278 (5): L1071-1081.
78. Löckinger A, Schutte H, Walmrath D, Seeger W and Grimminger F. 2001. Protection against gas exchange abnormalities by pre-aerosolized PGE₁, Iloprost and Nitroprusside in lung ischemia-reperfusion. *Transplantation*, 71 (2): 185-193.
79. Mayer E, Puskas JD, Cardoso PF, Shi S, Slutsky AS and Patterson GA. 1992. Reliable eighteen-hour lung preservation at 4 degrees and 10 degrees C by pulmonary artery flush after high-dose prostaglandin E1 administration. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 103 (6): 1136-1142.
80. Menasche P, Termignon JL, Pradier F, Grousset C, Mouas C, Alberici G, Weiss M, Piwnica A and Bloch G. 1994. Experimental evaluation of Celsior, a new heart preservation solution. *Eur J Cardiothorac Surg*, 8 (4): 207-213.

81. Mertes PM, el Abassi K, Jaboin Y, Burtin P, Pinelli G, Carteaux JP, Burlet C, Boulange M and Villemot JP. 1994. Changes in hemodynamic and metabolic parameters following induced brain death in the pig. *Transplantation*, 58 (4): 414-418.
82. Metras D. 1992. Henri Metras: A pioneer in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 11 (6): 1213-1215; Discussion 1215-1216.
83. Meyers BF, Lynch J, Trulock EP, Guthrie TJ, Cooper JD and Patterson GA. 1999. Lung transplantation: A decade of experience. *Ann Surg*, 230 (3): 362-370; Discussion 370-361.
84. Mills NL, Boyd AD and Gheranpong C. 1970. The significance of bronchial circulation in lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 60 (6): 866-878.
85. Miotla JM, Jeffery PK and Hellewell PG. 1998. Platelet-activating factor plays a pivotal role in the induction of experimental lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 18 (2): 197-204.
86. Mizutani H, Minamoto K, Aoe M, Yamashita M, Date H, Andou A and Shimizu N. 1998. Expression of Endothelin-1 and Effects of an Endothelin Receptor Antagonist, TAK-044, at Reperfusion after Cold Preservation in a Canine Lung Transplantation Model. *J Heart Lung Transplant*, 17 (8): 835-845.
87. Müller C, Bittmann I, Hatz R, Kellner B, Schelling G, Furst H, Reichart B and Schildberg FW. 2002. Improvement of Lung Preservation - From Experiment to Clinical Practice. *Eur Surg Res*, 34 (1-2): 77-82.
88. Nagase T, Kurihara H, Kurihara Y, Aoki-Nagase T, Nagai R and Ouchi Y. 1999a. Disruption of ET-1 gene enhances pulmonary responses to methacholine via functional mechanism in knockout mice. *J Appl Physiol*, 87 (6): 2020-2024.
89. Nagase T, Ishii S, Kume K, Uozumi N, Izumi T, Ouchi Y and Shimizu T. 1999b. Platelet-activating factor mediates acid-induced lung injury in genetically engineered mice. *J Clin Invest*, 104 (8): 1071-1076.

90. Naka Y, Marsh HC, Scesney SM, Oz MC and Pinsky DJ. 1997. Complement activation as a cause for primary graft failure in an isogeneic rat model of hypothermic lung preservation and transplantation. *Transplantation*, 64 (9): 1248-1255.
91. Novick RJ, MacDonald J, Veldhuizen RA, Wan F, Duplan J, Denning L, Possmayer F, Gilpin AA, Yao LJ, Bjarneson D and Lewis JF. 1996. Evaluation of Surfactant Treatment Strategies after Prolonged Graft Storage in Lung Transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 154 (1): 98-104.
92. Novick RJ, Possmayer F, Veldhuizen RA, Menkis AH and McKenzie FN. 1991a. Surfactant Analysis and Replacement Therapy: A Future Tool of the Lung Transplant Surgeon? *Ann Thorac Surg*, 52 (5): 1194-1200.
93. Novick RJ, Reid KR, Denning L, Duplan J, Menkis AH and McKenzie FN. 1991b. Prolonged preservation of canine lung allografts: The role of prostaglandins. *Ann Thorac Surg*, 51 (5): 853-859.
94. Ochs M, Fehrenbach H, Nenadic I, Bando T, Fehrenbach A, Schepelmann D, Albes JM, Wahlers T and Richter J. 2000. Preservation of intraalveolar surfactant in a rat lung ischaemia/reperfusion injury model. *Eur Respir J*, 15 (3): 526-531.
95. Ochs M, Nenadic I, Fehrenbach A, Albes JM, Wahlers T, Richter J and Fehrenbach H. 1999. Ultrastructural alterations in intraalveolar surfactant subtypes after experimental ischemia and reperfusion. *Am J Respir Crit Care Med*, 160 (2): 718-724.
96. Olschewski H, Walmrath D, Schermuly R, Ghofrani A, Grimminger F and Seeger W. 1996. Aerosolized prostacyclin and iloprost in severe pulmonary hypertension. *Ann Intern Med*, 124 (9): 820-824.
97. Opitz CF, Wensel R, Bettmann M, Schaffarczyk R, Linscheid M, Hetzer R and Ewert R. 2003. Assessment of the vasodilator response in primary pulmonary hypertension. Comparing prostacyclin and iloprost administered by either infusion or inhalation. *Eur Heart J*, 24 (4): 356-365.

98. Padilla AM and Padilla JD. 2004. Lung Preservation: Current Practices. Arch Bronconeumol, 40 (2): 86-93.
99. Paradis I, Yousem S and Griffith B. 1993. Airway obstruction and bronchiolitis obliterans after lung transplantation. Clin Chest Med, 14 (4): 751-763.
100. Pierre AF, Xavier AM, Liu M, Cassivi SD, Lindsay TF, Marsh HC, Slutsky AS and Keshavjee SH. 1998. Effect of complement inhibition with soluble complement receptor 1 on pig allotransplant lung function. Transplantation, 66 (6): 723-732.
101. Pinsky DJ, Naka Y, Liao H, Oz MC, Wagner DD, Mayadas TN, Johnson RC, Hynes RO, Heath M, Lawson CA and Stern DM. 1996. Hypoxia-induced exocytosis of endothelial cell Weibel-Palade bodies. A mechanism for rapid neutrophil recruitment after cardiac preservation. J Clin Invest, 97 (2): 493-500.
102. Pinsky DJ, Naka Y, Chowdhury NC, Liao H, Oz MC, Michler RE, Kubaszewski E, Malinski T and Stern DM. 1994. The nitric oxide/cyclic gmp pathway in organ transplantation: Critical role in successful lung preservation. Proc Natl Acad Sci USA, 91 (25): 12086-12090.
103. Pratico D, Pasin M, Barry OP, Ghiselli A, Sabatino G, Iuliano L, FitzGerald GA and Violi F. 1999. Iron-dependent human platelet activation and hydroxyl radical formation: Involvement of protein kinase C. Circulation, 99 (24): 3118-3124.
104. Qayumi AK, Jamieson WR, Poostizadeh A, Germann E and Gillespie KD. 1992. Comparison of new iron chelating agents in the prevention of ischemia/reperfusion injury: A swine model of heart-lung transplantation. J Invest Surg, 5 (2): 115-127.
105. Rabanal JM, Ibanez AM, Mons R, Gonzales AM, Carbajo M, Orthega J and Zurbano F. 2003. Influence of preservation solution on early lung function (Euro-Collins vs. Perfadex). Transplant Proc, 5: 1938-1939

106. Reitz BA, Bieber CP, Raney AA, Pennock JL, Jamieson SW, Oyer PE and Stinson EB. 1981. Orthotopic heart and combined heart and lung transplantation with cyclosporin-A immune suppression. *Transplant Proc*, 13 (1 Pt 1): 393-396.
107. Reitz BA, Burton NA, Jamieson SW, Bieber CP, Pennock JL, Stinson EB and Shumway NE. 1980. Heart and lung transplantation: Autotransplantation and allotransplantation in primates with extended survival. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 80 (3): 360-372.
108. Rooney SA. 2001. Regulation of surfactant secretion. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 129 (1): 233-243.
109. Rose F, Zwick K, Ghofrani HA, Sibelius U, Seeger W, Walrmath D and Grimminger F. 1999. Prostacyclin enhances stretch-induced surfactant secretion in alveolar epithelial type II cells. *Am J Respir Crit Care Med*, 160 (3): 846-851.
110. Sandera P, Hillinger S, Stammberger U, Schoedon G, Zalunardo M, Weder W and Schmid RA. 2000. 8-Br-Cyclic GMP Given During Reperfusion Improves Post-transplant Lung Edema and Free Radical Injury. *J Heart Lung Transplant*, 19 (2): 173-178.
111. Sarsam MA, Yonan NA, Deiraniya AK and Rahman AN. 1993. Retrograde Pulmonaryplegia for Lung Preservation in Clinical Transplantation: A new technique. *J Heart Lung Transplant*, 12 (3): 494-498.
112. Sasaki M, Muraoka R, Chiba Y and Hiramatsu Y. 1996. Influence of pulmonary arterial pressure during flushing on lung preservation. *Transplantation*, 61 (1): 22-27.
113. Schermuly RT, Roehl A, Weissmann N, Ghofrani HA, Leuchte H, Grimminger F, Seeger W and Walrmath D. 2001. Combination of nonspecific PDE inhibitors with inhaled prostacyclin in experimental pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 281 (6): L1361-1368.

114. Schermuly RT, Roehl A, Weissmann N, Ghofrani HA, Schudt C, Tenor H, Grimminger F, Seeger W and Walmrath D. 2000. Subthreshold doses of specific phosphodiesterase type 3 and 4 inhibitors enhance the pulmonary vasodilatory response to nebulized prostacyclin with improvement in gas exchange. *J Pharmacol Exp Ther*, 292 (2): 512-520.
115. Schütte H, Lockinger A, Seeger W and Grimminger F. 2001. Aerosolized PGE₁, PGI₂ and Nitroprusside protect against vascular leakage in lung ischaemia-reperfusion. *Eur Respir J*, 18 (1): 15-22.
116. Schwarz C, Regele H, Steininger R, Hansmann C, Mayer G and Oberbauer R. 2001. The contribution of adhesion molecule expression in donor kidney biopsies to early allograft dysfunction. *Transplantation*, 71 (11): 1666-1670.
117. Sekido N, Mukaida N, Harada A, Nakanishi I, Watanabe Y and Matsushima K. 1993. Prevention of lung reperfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against interleukin-8. *Nature*, 365 (6447): 654-657.
118. Serrick C, Adoumie R, Giaid A and Shennib H. 1994. The early release of interleukin-2, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma after ischemia reperfusion injury in the lung allograft. *Transplantation*, 58 (11): 1158-1162.
119. Shennib H, Kuang JQ and Giaid A. 2001. Successful Retrieval and Function of Lungs From Non-Heart-Beating Donors. *Ann Thorac Surg*, 71 (2): 458-461.
120. Shennib H, Lee AG, Kuang JQ, Yanagisawa M, Ohlstein EH and Giaid A. 1998. Efficacy of administering an endothelin-receptor antagonist (SB209670) in ameliorating ischemia-reperfusion injury in lung allografts. *Am J Respir Crit Care Med*, 157 (6 Pt 1): 1975-1981.
121. Shennib H, Serrick C, Saleh D, Reis A, Stewart DJ and Giaid A. 1995. Plasma Endothelin-1 Levels in Human Lung Transplant Recipients. *J Cardiovasc Pharmacol*, 26 (Suppl 3) S516-518.

122. Shiraishi T, Igisu H and Shirakusa T. 1994. Effects of pH and temperature on lung preservation: A study with an isolated rat lung reperfusion model. *Ann Thorac Surg*, 57 (3): 639-643.
123. Shumway SJ, Hertz MI, Petty MG and Bolman RM, 3rd. 1994. Liberalization of donor criteria in lung and heart-lung transplantation. *Ann Thorac Surg*, 57 (1): 92-95.
124. Siobal M RRT. 2004. Aerosolized Prostacyclins. *Respir Care*, 49 (6): 640-652
125. Spaggiari L and Bobbio P. 1994. Dextran 40 at 2% versus 5% in low-potassium solutions: Which is best? *Ann Thorac Surg*, 58 (6): 1784-1786.
126. Stammberger U, Hamacher J, Hillinger S and Schmid RA. 2000a. sCR1sLe^x ameliorates ischemia/reperfusion injury in experimental lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 120 (6): 1078-1084.
127. Stammberger U, Gaspert A, Hillinger S, Vogt P, Odermatt B, Weder W and Schmid RA. 2000b. Apoptosis Induced by Ischemia and Reperfusion in Experimental Lung Transplantation. *Ann Thorac Surg*, 69 (5): 1532-1536.
128. Stammberger U, Carboni GL, Hillinger S, Schneiter D, Weder W and Schmid RA. 1999. Combined Treatment with Endothelin- and PAF-Antagonists Reduces Posttransplant Lung Ischemia/Reperfusion Injury. *J Heart Lung Transplant*, 18 (9): 862-868.
129. Stammberger U, Schmid RA, Hillinger S, Singer T, Schöb OM, Zollinger A, Weder W. 1998. Effect of a short period of warm ischemia after cold preservation on reperfusion injury in lung allotransplantation. *Eur J Cardiothorac Surg*, 13: 442-448
130. Staudacher V, Bellinazzo P, Pulin A. 1950. Primi rilievi su tentavi di reimpianti autoplastici e di trapianti omoplastici di lobi pulmonari. *Chirurgia (Milano)*, 5: 227-233
131. Steen S, Sjoberg T, Pierre L, Liao Q, Eriksson L and Algotsson L. 2001. Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor. *Lancet*, 357 (9259): 825-829.

132. Steen S, Kimblad PO, Sjöberg T, Lindberg L, Ingemansson R and Massa G. 1994. Safe Lung Preservation for Twenty-Four Hours With Perfadex. *Ann Thorac Surg*, 57 (2): 450-457.
133. Steen S, Sjöberg T, Massa G, Ericsson L and Lindberg L. 1993. Safe Pulmonary Preservation for 12 Hours With Low-Potassium-Dextran Solution. *Ann Thorac Surg*, 55 (2): 434-440.
134. Steinberg JB, Mao HZ, Niles SD, Jutila MA and Kapelanski DP. 1994. Survival in lung reperfusion injury is improved by an antibody that binds and inhibits L- and E-selectin. *J Heart Lung Transplant*, 13 (2): 306-318
135. Strüber M, Hohlfeld JM, Kofidis T, Warnecke G, Niedermeyer J, Sommer SP and Haverich A. 2002. Surfactant function in lung transplantation after 24 hours of ischemia: advantage of retrograde flush perfusion for preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 123 (1): 98-103.
136. Strüber M, Wilhelmi M, Harringer W, Niedermeyer J, Anssar M, Kunsebeck A, Schmitto JD and Haverich A. 2001. Flush perfusion with low potassium dextran solution improves early graft function in clinical lung transplantation. *Eur J Cardiothorac Surg*, 19 (2): 190-194.
137. Strüber M, Hohlfeld JM, Fraund S, Kim P, Warnecke G and Haverich A. 2000. Low-potassium dextran solution ameliorates reperfusion injury of the lung and protects surfactant function. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 120 (3): 566-572.
138. Strüber M, Hirt SW, Cremer J, Harringer W and Haverich A. 1999. Surfactant replacement in reperfusion injury after clinical lung transplantation. *Intensive Care Med*, 25 (8): 862-864.
139. Sundaresan S. 1998. Bronchiolitis Obliterans. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 10 (3): 221-226.

140. Sundaresan S, Semenkovich J, Ochoa L, Richardson G, Trulock EP, Cooper JD and Patterson GA. 1995. Successful outcome of lung transplantation is not compromised by the use of marginal donor lungs. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 109 (6): 1075-1079; Discussion 1079-1080.
141. Sundaresan S, Lima O, Date H, Matsumura A, Tsuji H, Obo H, Aoe M, Mizuta T and Cooper JD. 1993. Lung Preservation With Low-Potassium Dextran Flush in a Primate Bilateral Transplant Model. *Ann Thorac Surg*, 56 (5): 1129-1135.
142. Suzuki S, Inoue K, Sugita M, Tsubochi H, Kondo T and Fujimura S. 2000. Effects of EP4 solution and LPD solution vs Euro-Collins solution on Na(+)/K(+)-ATPase activity in rat alveolar type II cells and human alveolar epithelial cell line A549 cells. *J Heart Lung Transplant*, 19 (9): 887-893.
143. Taghavi S, Abraham D, Riml P, Paulus P, Schafer R, Klepetko W and Aharinejad S. 2002. Co-expression of endothelin-1 and vascular endothelial growth factor mediates increased vascular permeability in lung grafts before reperfusion. *J Heart Lung Transplant*, 21 (5): 600-603.
144. Takeuchi K, Suzuki S, Kako N, Kobayashi M, Takahashi S, Sawada M, Honma T, Iwabuchi S, Fukui K, Koyama K and et al. 1992. A prostacyclin analogue reduces free radical generation in heart-lung transplantation. *Ann Thorac Surg*, 54 (2): 327-332.
145. Takeyoshi I, Iwanami K, Kamoshita N, Takahashi T, Kobayashi J, Tomizawa N, Kawashima Y, Matsumoto K and Morishita Y. 2001. Effect of lazaroïd U-74389G on pulmonary ischemia-reperfusion injury in dogs. *J Invest Surg*, 14 (2): 83-92.
146. Till U. 1999. Zelluläre Schädigungsmechanismen. In: Till U. Pathophysiologie / Pathobiochemie systematisch. 1. Auflage. Bremen: Uni-Med Verlag (1999), 146-160.
147. Toronto Lung Transplant Group. 1986. Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. Toronto Lung Transplant Group. *N Engl J Med*, 314 (18): 1140-1145.

148. Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, Boucek MM, Mohacsi PJ, Keck BM and Hertz MI. 2003. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twentieth Official Adult Lung and Heart-Lung Transplant Report-2003. *J Heart Lung Transplant*, 22 (6): 625-635.
149. Vainikka T, Heikkila L, Kukkonen S and Toivonen HJ. 2001. L-Arginine in Lung Graft Preservation and Reperfusion. *J Heart Lung Transplant*, 20 (5): 559-567.
150. Walmrath D, Schermuly R, Pilch J, Grimminger F, Seeger W. 1997. Effects of inhaled versus intravenous vasodilators in experimental pulmonary hypertension. *Eur Respir J*, 10 (5): 1084-1095
151. Walmrath D, Schneider T, Pilch J, Grimminger F, Seeger W. 1993. Aerosolized prostacyclin in adult respiratory distress syndrome. *Lancet*, 342 (8877): 961-962
152. Wang LS, Nakamoto K, Hsieh CM, Miyoshi S and Cooper JD. 1993. Influence of Temperature of Flushing Solution on Lung Preservation. *Ann Thorac Surg*, 55 (3): 711-715.
153. Wang LS, Yoshikawa K, Miyoshi S, Nakamoto K, Hsieh CM, Yamazaki F, Guerreiro Cardoso PF, Schaefer HJ, Brito J, Keshavjee SH and et al. 1989. The effect of ischemic time and temperature on lung preservation in a simple ex vivo rabbit model used for functional assessment. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 98 (3): 333-342.
154. Ware LB, Wang Y, Fang X, Warnock M, Sakuma T, Hall TS and Matthay M. 2002. Assessment of lungs rejected for transplantation and implications for donor selection. *Lancet*, 360 (9333): 619-620.
155. Ware LB, Golden JA, Finkbeiner WE and Matthay MA. 1999. Alveolar epithelial fluid transport capacity in reperfusion lung injury after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med*, 159 (3): 980-988.

156. Wittwer T. 2002. Retrograde Organperfusion mit modernen Konservierungslösungen in der experimentellen Lungentransplantation. [Habilitationsschrift]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität
157. Wittwer T, Grote M, Oppelt P, Franke U, Schaefers HJ and Wahlers T. 2001a. Impact of PAF-Antagonist BN 52021 (Ginkgolide B) on Postischemic Graft Function in Clinical Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 20 (3): 358-363.
158. Wittwer T, Pethig K, Struber M, Hoeper M, Harringer W, Haverich A, Franke U and Wahlers T. 2001b. Aerosolized Iloprost for Severe Pulmonary Hypertension as a Bridge to Heart Transplantation. *Ann Thorac Surg*, 71 (3): 1004-1006.
159. Wittwer T, Wahlers T, Fehrenbach A, Cornelius JF, Elki S, Ochs M, Fehrenbach H, Albes J, Haverich A and Richter J. 1999. Combined use of prostacyclin and higher perfusate temperatures further enhances the superior lung preservation by Celsior solution in the isolated rat lung. *J Heart Lung Transplant*, 18 (7): 684-692.
160. Yokomise H, Ueno T, Yamazaki F, Keshavjee S, Slutsky A and Patterson G. 1990. The effect and optimal time of administration of verapamil on lung preservation. *Transplantation*, 49 (6): 1039-1043.
161. Zhao G, Ayene IS and Fisher AB. 1997. Role of iron in ischemia-reperfusion oxidative injury of rat lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 16 (3): 293-299.

6 Anhang

6.1 Danksagung

Diese Dissertation, die experimentelle Untersuchungen im Großtiermodell umfasst, wäre ohne die Hilfe einer Reihe von Personen nicht möglich gewesen. Für diese Unterstützung möchte ich mich ganz herzlich bedanken.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Thorsten Wahlers, Direktor der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie, dafür, dass er mir ermöglichte, meine Dissertation in seiner Klinik anzufertigen, sowie für das Korrekturlesen des Manuskriptes.

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn PD Dr. med. Thorsten Wittwer, Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie, für die Vergabe des Themas, die herzliche Aufnahme in das Team, die Bereitstellung des etablierten Transplantationsmodells, die freundliche Unterstützung beim operativen Teil der Arbeit, die Überlassung der benötigten Daten sowie das ausdauernde Korrekturlesen und Überarbeiten des Manuskriptes.

Ebenfalls möchte ich mich bei meinen Mitdoktoranden Tim Sandhaus, Felix Pfeiffer und Alexander Schütte für die Unterstützung bei der Planung und Durchführung des experimentellen Teils der Arbeit bedanken.

Mein Dank gilt dem medizinisch technischen Personal der Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie Jena, insbesondere Frau Sigrun Kirste, Frau Katrin Hornung, Frau Simone Böhm sowie Frau Christine Mollenhauer, für die Unterstützung bei der Durchführung der experimentellen Arbeit und für die Hilfe bei Fragen des technischen Know-How.

Ich danke Herrn Dr. rer. nat. Harald Schubert, Leiter des Institutes für Versuchstierkunde der Friedrich-Schiller-Universität Jena und seinen Mitarbeitern für die Ermöglichung des Großtierversuches in ihrem Institut und für die präoperative Betreuung der Versuchstiere. Für die anästhesiologische Betreuung während der

Operationen möchte ich mich ganz herzlich bei Herrn Dr. med. vet. Thomas Müller, Institut für Versuchstierkunde der Friedrich-Schiller-Universität Jena, bedanken.

Bedanken möchte ich mich außerdem bei Herrn Prof. Dr. med. Hartwig Kosmehl sowie Herrn Dr. med. Peter Petrow, Institut für Pathologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, für die Durchführung der histologischen Auswertung der alveolären Leukozyteninfiltration.

Mein Dank gilt Herrn Dr. rer. nat. Rüdiger Volland, Institut für medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation für die Beratung und Hilfe bei der statistischen Auswertung des Datenmaterials.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden, die mich unterstützt und immer wieder motiviert haben.

6.2 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist. Diese Dissertation habe ich selbst angefertigt. Alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen sind in meiner Arbeit genannt. Folgende Personen haben mich bei der Durchführung der Experimente, der Auswertung des Materials und der Herstellung des Manuskriptes wie folgt unterstützt:

Herr Prof. Dr. med. Thorsten Wahlers, Direktor der Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie Jena: Durchsicht und Korrektur des Manuskriptes

Herr PD Dr. med. Thorsten Wittwer, Oberarzt in der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie Jena: Vergabe des Themas, Unterstützung beim operativen Teil der experimentellen Arbeit, Durchsicht und Korrektur des Manuskriptes

cand. med. Tim Sandhaus, cand. med. Felix Pfeiffer, cand. med. Alexander Schütte, Doktoranden in der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie Jena: Unterstützung beim experimentellen Teil der Arbeit

Frau Sigrun Kirste, Frau Katrin Hornung, Frau Simone Böhm, Frau Christine Mollenhauer, medizinisch technische Assistenten in der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie Jena: Unterstützung beim experimentellen Teil der Arbeit

Herr Prof. Dr. med. Hartwig Kosmehl sowie Herr Dr. med. Peter Petrow, Institut für Pathologie der Friedrich-Schiller-Universität Jena: Durchführung der histologischen Auswertung der alveolären Leukozyteninfiltration

Herr Dr. rer. nat. Rüdiger Volland, Institut für medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation der Friedrich-Schiller-Universität Jena: Beratung bei der statistischen Analyse des Datenmaterials

Weitere Personen waren an der inhaltlich-materiellen Erstellung dieser Arbeit nicht beteiligt. Die Hilfe eines Promotionsberaters habe ich nicht in Anspruch genommen. Dritte haben weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten, die in Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen. Außerdem erkläre ich, dass ich weder die gleiche noch eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder andere Abhandlung bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, den 17. Juli 2005

Stefan Richter

6.3 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Stefan Richter
Geb. am: 10. November 1979 in Bad Salzungen
Familienstand: verheiratet, 2 Kinder
Nationalität: deutsch
Konfession: römisch-katholisch

Bildungsweg:

09/1986-09/1991 Grundsulhteil der Waldemar-Estel-Oberschule Buttlar
09/1991-09/1998 Johann Friedrich-Seume-Gymnasium Vacha
07/1997 Deutsche Schülerakademie in Annweiler am Trifels
1998 Erlangen der Hochschulreife
09/1998-10/1999 Zivildienst in der Abteilung für Innere Medizin, KKH Bad Salzungen
10/1999 Immatrikulation an der medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena
10/1999-09/2001 vorklinischer Teil des Medizinstudiums in Jena
09/2001 Physikum
09/2001-12/2005 klinischer Teil des Medizinstudiums in Jena
08/2002 1.Staatsexamen
04/2002-04/2004 Durchführung des experimentellen Teils der Promotion
04/2004-06/2005 Anfertigung der Dissertationsschrift
09/2004 2.Staatsexamen
10/2004 – 10/2005 Praktisches Jahr im Klinikum der Friedrich-Schiller-Universität Jena
12/2005 3. Staatsexamen und Approbation als Arzt
Ab 01/2006 Assistenzarzt in der Klinik für Kardiologie der Zentralklinik Bad Berka